的人，脱落细胞才会在此积聚并逐渐增多，致使容易检出。在实际工作中，多数技术员往往只注重工具把手表面凸起的或平整部位的检验，而忽视了缝隙、沟槽等部位的检验。本案中，技术人员正是重视了这一理念，将该折叠匕首的刀柄与刀刃对合处缝隙单独当作一个分区，才成功检出第三名犯罪嫌疑人 DNA。

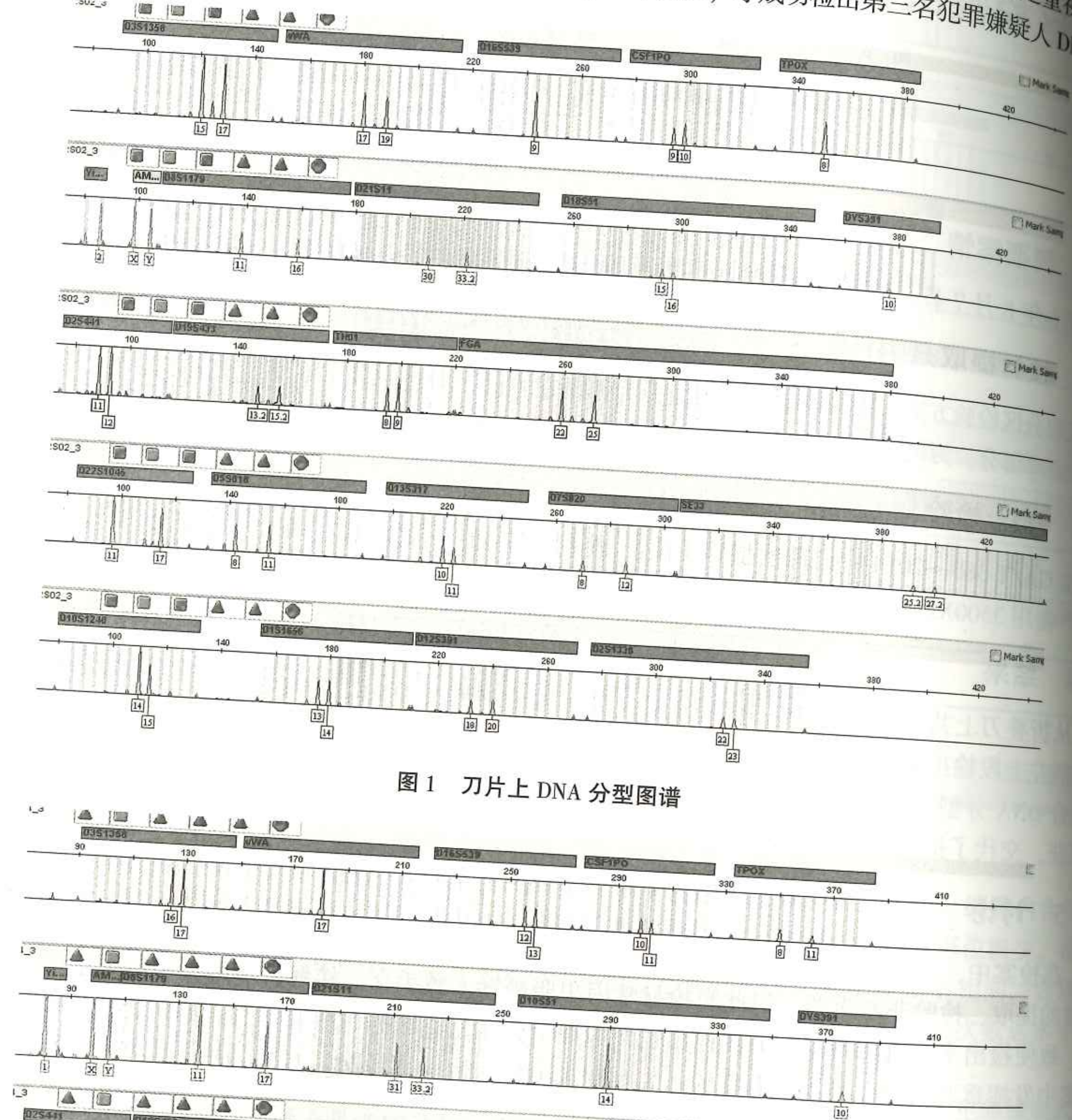


图 1　刀片上 DNA 分型图谱

图 2　刀柄左上段 DNA 分型图谱

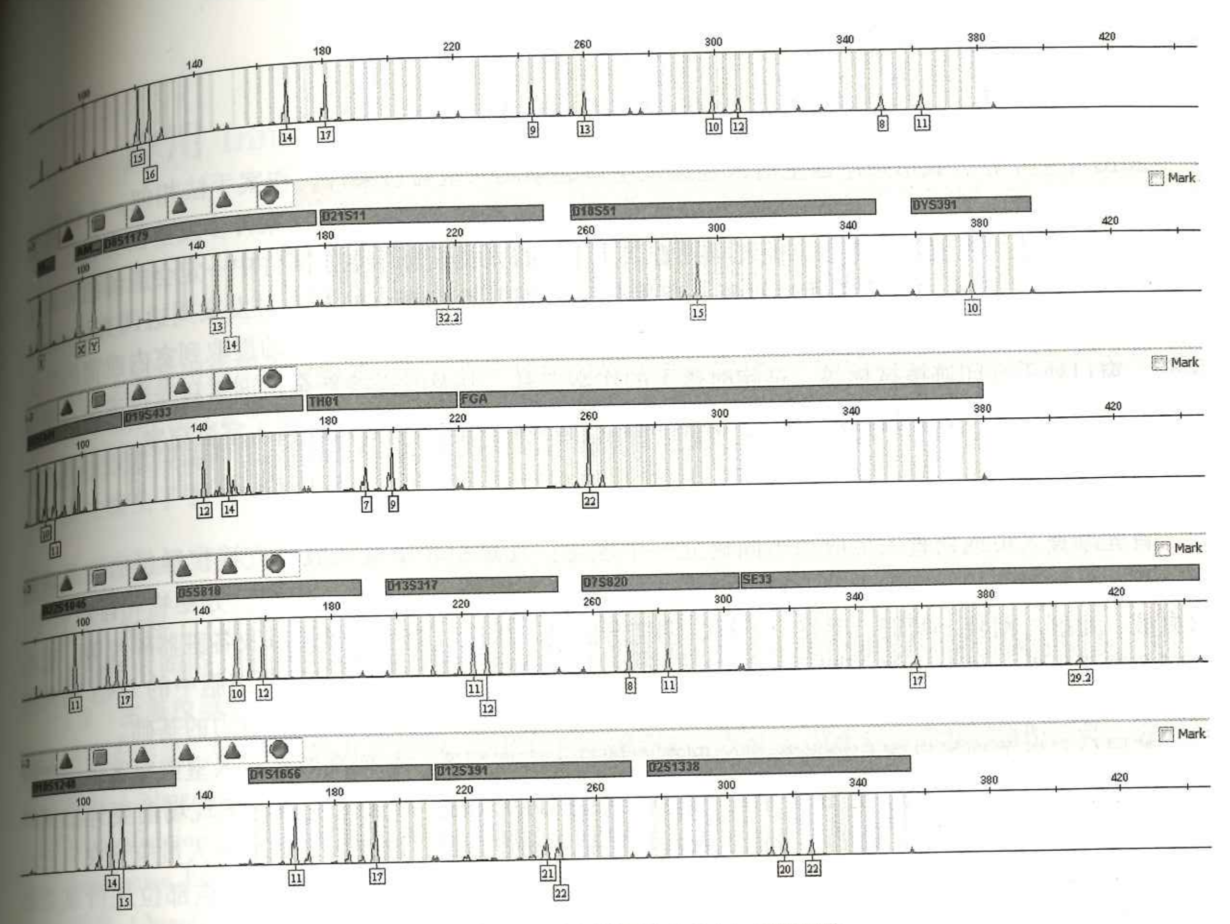


图 3　刀柄与刀刃对合处缝隙内 DNA 分型图谱

5.3　选择合适的扩增试剂盒和测序仪

如本案中使用的 Globalfiler 试剂盒和 3500xl 型测序仪。Globalfiler 试剂盒是 ABI 公司生产的六色荧光标记扩增试剂盒，检测灵敏度高，非常适合微量检材的检验。3500xl 测序仪相较于 31xx 型测序仪，具有更高的灵敏度，有利于检验。

浅谈基层刑事技术部门 DNA 检材的发现与提取

胡瑞强[1]，盛国亮[2]

（1. 江西省新余市袁河公安分局，338001；2. 江西省新余市高新公安分局，338004）

基层公安侦查人员对刑事案件的现场勘察和检验，是公安机关同刑事犯罪做斗争的重要活动，是侦查破案程序中的第一程序，是侦查破案的重要环节，在侦查破案中处于重要地位。但是随着犯罪嫌疑人反侦查意识的增强，作案手段日益智能化，戴手套、脚套作案、避免现场遗留物等作案现场越来越多，给指纹、足印等传统痕迹物证的提取带来极大困难。但随着法医 DNA 检验技术的日益成熟，现场 DNA 检材越来越受到重视，成为侦破案件的新亮点。这就对现场勘查工作提出了更高的要求，特别是基层公安机关所接触的刑事案件，大都直接关系老百姓的切身利益，因此通过破获更多的“小”案件，特别是要破获那些发生在人民群众身上和身边的侵财案件，从而提升人民群众安全感、幸福感和满意度。本文浅谈基层公安勘查人员或侦查人员如何在刑事案件现场发现和提取生物检材一

些心得，供同行们参考指正。

1 案例资料

2016 年上半年，我市某厂区生活区连续发生多起攀爬入室盗窃案件，作案手法相似，人民群众反响很大，笔者所在的基层刑侦大队成立专案组对案件进行重点侦破，由于案件多发生在晚饭后，天色变暗黄昏时分，视侦效果不佳，但现场勘查人员和侦查人员们坚信这些案件中一定会遗留犯罪嫌疑人的 DNA 检材，技术中队民警通过对每一起案件的仔细勘验检查、侦查员对发案周边调查访问后，成功的串并案三串，共串并三十余起攀爬入室盗窃案件，并有多起案件成功的提取到室内遗留的作案手套、窗口处手套印迹擦拭棉签、逃跑时落下的作案工具，并及时送检新余市刑事科学技术室，成功获取犯罪嫌疑人 DNA 信息，并比中前科人员黎某，成功破获辖区内系列攀爬入室盗窃案。

2 心得体会

首先勘查人员或侦查人员应当牢固树立一个理念：凡是犯罪嫌疑人肢体直接接触过的物品或地方，都有可能遗留犯罪嫌疑人的 DNA 检材。DNA 检材主要指人体器官、组织、分泌物和排泄物等，如血液、血痕、精液、精斑、毛发、唾液、阴道分泌物、尿液、粪便、骨骼以及各脏器碎片等。它具有三个重要特性：（1）人各不同；（2）终生不变；（3）同一人体各不同部位细胞中的 DNA 结构相同。它的这些特性对案件的侦破起到至关重要的作用，为司法鉴定提供了坚实有力的基础。

基层公安机关现场勘察和检验最多的刑事案件是入室盗窃案，如何高效地在入室盗窃案件中提取到犯罪嫌疑人的 DNA 检材，往往成为直接破获此类案件的关键。勘查入室盗窃案现场前要详细询问受害人现场门窗关闭状态、财物存放地点及现场物品变动等情况，勘查人员或侦查人员应该在自己的脑海中模拟出犯罪嫌疑人作案过程，对现场进行重建，然后在现场勘查中，对重点部位进行重点勘验，做到既全面、细致又耐心、细心。比如，案发现场的出入口处要重点发现有没有可疑血迹、新鲜的指掌印（处理后提取 DNA 检材）、协助进出现场的绳索等；对现场中犯罪嫌疑人可疑接触的物品，如饮水容器（茶杯、纸杯、饮料瓶等，内有液体的要先清除），吃剩的果核（壳）、食品及包装袋等都要逐一提取；对犯罪嫌疑人遗留的物品，如作案工具（如螺丝刀、起子、扳手、撬棍、刀具等）、手套、帽子等衣物、手提袋、箱包、可疑的烟蒂、打火机、手电筒、新鲜痰迹、卫生纸等都要逐一提取；对犯罪嫌疑人可能长时间或用力接触的物品，如出入口处的窗户框、门锁、把手等物，可用棉签二步法转移提取，这些检材有可能检出犯罪分子的 DNA 信息。对于案发现场周边有针对性的勘验，如望风、蹲点处等，往往能提取到烟头、排过的便迹、痰迹等有效的 DNA 检材。

3 讨论

刑事案件现场 DNA 检材的表现形式是多种多样的，基层勘查人员或侦查人员要多留意 DNA 检材以及可能遗留 DNA 检材的物证的寻找和发现。在现场勘查中要牢固树立一个理念：凡是犯罪嫌疑人肢体直接接触过的物品或地方，都有可能遗留犯罪嫌疑人的 DNA 检材，不断拓宽提取 DNA 检材的范围。立足案件现场，结合访问情况，积极思考、认真分析，对案件现场重建，合理推断犯罪嫌疑人的作案过程，努力发现和提取与犯罪有关的痕迹物证，并且以高度责任心对现场的 DNA 检材进行甄别，抓住蛛丝马迹，发现提取到有效的 DNA 检材，成功获取犯罪嫌疑人 DNA 信息，为案件侦破提供侦查线索，为法庭审判提供强有力的证据支持。

【参考文献】

[1] 谢世新. 刑事案件现场中生物检材的发现和提取［M］. 北京：群众出版社，2000.

应用 InnoTyper 21 试剂盒检验毛发的 Indel 位点

孙庆东，黄　磊，杨业翔

（山东省公安厅物证鉴定研究中心，250001）

毛发主要是由角质蛋白组成，STR 检验很难取得成功。因此，长期以来对毛发 DNA 的检验主要是线粒体 DNA 测序。近年来，随着 InDel 研究的深入发展，运用 InDel 位点对毛发进行 DNA 检验的商品化试剂盒应运而生。笔者采用改进的纯化方法提取毛发的 DNA，应用 InnoTyper 21 试剂盒进行检验，成功检出了 21 个 InDel 位点。

1 材料与方法

1.1 材料

毛发样本两份，每份平均分为 3 个样本，共 6 个样本，来自本单位非 DNA 室的两位同事。

1.2 主要仪器和试剂

恒温水浴箱；9700 型 PCR 扩增仪（AB 公司，美国）；3500XL 型遗传分析仪（AB 公司，美国）；蛋白酶 K（20mg/ml）；DTT（1mol/L）；QIAamp© Investigator Kit（QIAGEN 公司，德国）；MinElute© PCR Purification Kit（QIAGEN 公司，德国）；PrepFiler™法医 DNA 提取试剂盒（AB 公司，美国）；Bone Incubation Bffer（Promega 公司，美国）；0.5M EDTA PH8.0（Promega 公司，美国）；InnoTyper 21 试剂盒（InnoGenomics 公司，美国）。

1.3 方法

1.3.1 毛发前处理

每份样本均取 8cm 左右，去除毛囊后剪成小段，加入超纯水超声波处理 30min，无水乙醇浸泡 10min，离心后充分挥干。

1.3.2 DNA 提取纯化

第一组两份样本按 QIAamp© Investigator Kit 试剂盒说明书消化提取毛发 DNA。第二组两份样本按 PrepFiler™法医 DNA 提取试剂盒说明书消化提取毛发 DNA。第三组两份样本每份加入 Bone Incubation Bffer 150μL，EDTA150μL，PK（20mg/ml）20μL，DTT（1mol/L）20μL，56 度裂解过夜。继续加入 PK20μL，DTT20μL 消化 3h。13000 转/分离心 3min，吸取上清 300μL，加入 QIAamp© Investigator Kit 试剂盒中的裂解液 AL 300μL，70 度裂解 10min 后加入 MinElute©　PCR Purification Kit 试剂盒中的 PB1200μL 混匀。按 MinElute©　PCR Purification Kit 试剂盒说明书操作纯化浓缩毛发 DNA 至 30μL 备用。

1.3.3 PCR 扩增、检测

采用 InnoTyper 21 试剂盒在 9700PCR 扩增仪上进行 PCR 反应，25μL 反应体系，引物 3.5μL，反应混合物 5μL，聚合酶 0.5μL，DNA16μL，扩增条件按试剂盒说明书设置。产物经 3500XL 型遗传分析仪检测，数据用 GeneMapper ID-X 软件分析。

2 结果

第一组、第二组均没有检测到阳性结果，第三组两份毛发均检测出 21 个 InDel 位点（见图 1～图 2）。

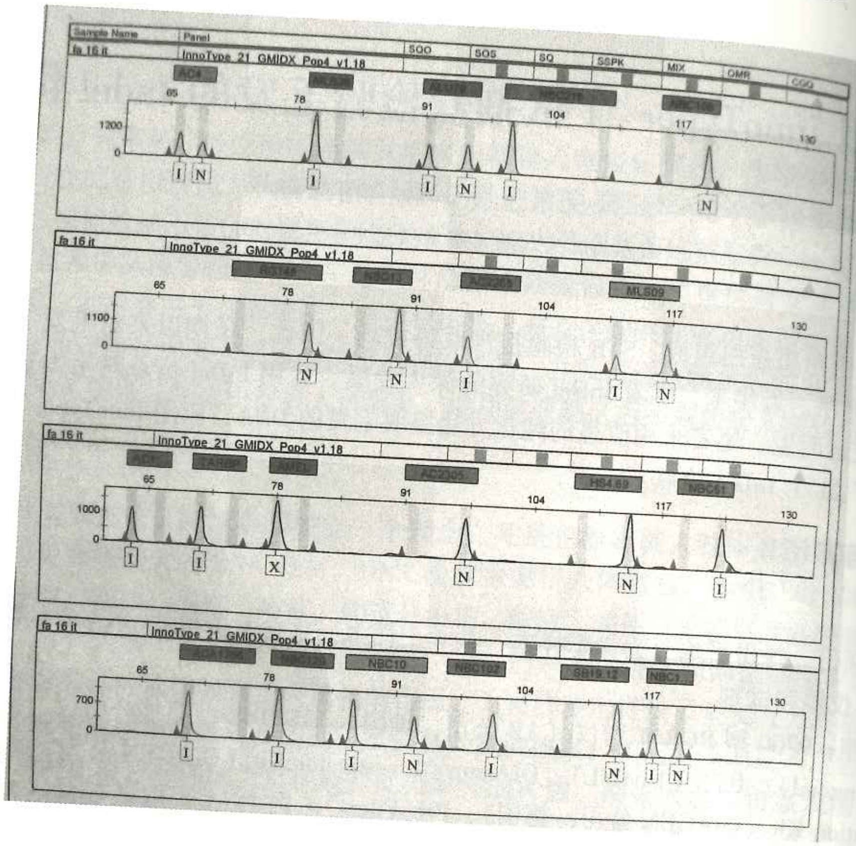


图 1

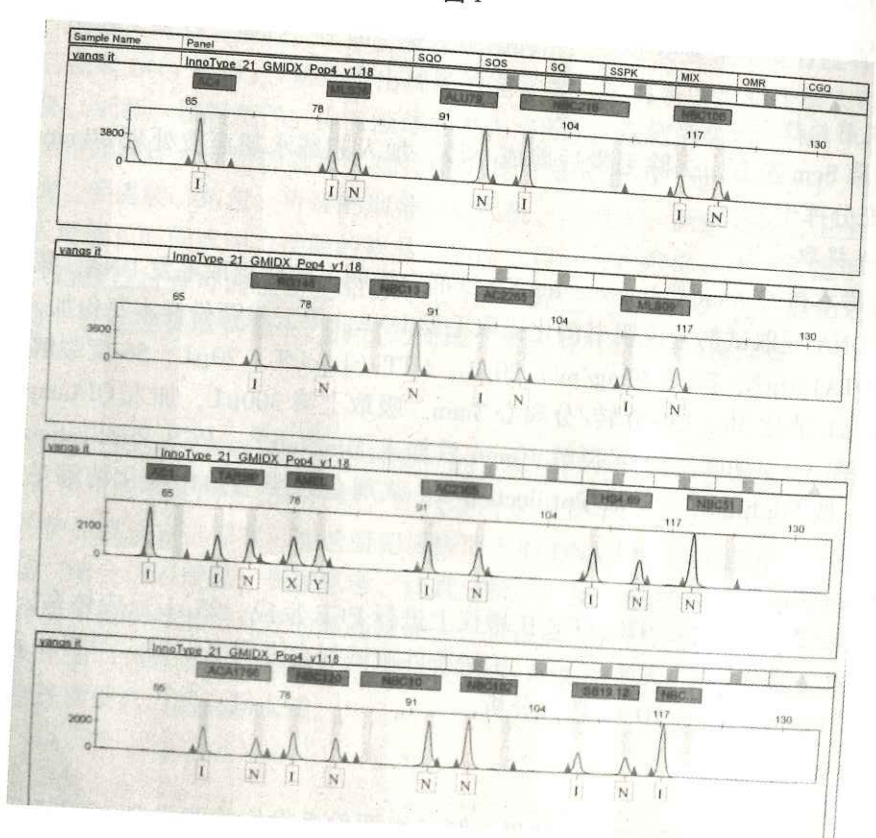


图 2

3 讨论

InDel 多态性是人类基因组中一种特殊类型的二等位基因遗传标记，表现为基因组中插入或缺失了不同大小的片段 DNA。在法医 DNA 鉴定中被选作鉴定用遗传标记的通常是重复单元为 2~15 个碱基的多碱基对的插入或缺失。InDel 位点兼具 STR 和 SNP 的优点，在本质上属于长度多态性，可以应用目前 DNA 实验室普及的毛细管电泳技术平台进行分析，分型技术易于掌握和普及。InDel 位点能够通过很小的扩增子进行扩增（<50bp），提高了扩增高度降解 DNA 的成功率。InnoTyper 21 试剂盒是小片段（60~125bp）试剂盒，远远小于常用的 STR 试剂盒，因此能成功检测出毛发的 21 个 InDel 位点，按照相关统计学资料计算，其似然比率可达 10^9，基本可以达到认定水平。

毛发的主要成分是角质蛋白，遗传物质少且高度降解，应用普通的提取纯化方法很难获得有效的 DNA 模板。笔者借鉴骨骼 DNA 的提取纯化方法，经过改良后获得了很好的分型结果，可有效应用于今后涉及毛发检材的案件检验。

与 STR 和 SNP 相比，InDel 位点突变频率较低，约为 10^{-8}，相对比较稳定。在亲子鉴定中如果出现亲代与子代之间 STR 位点出现不符合孟德尔遗传定律的现象时，除了进行 Y-STR 和 X-STR 检验外，还可以增加 InDel 位点检测验证，最大限度地保证结果的准确性。

优化检验方案　成功检验陈旧降解生物检材的思考

康成良

（山东省沂源县公安局，256100）

案件现场复杂多样决定了公安司法鉴定机构经常会面临各种类型的陈旧降解类生物检材，这类生物检材在保存时间过长和所处环境的温度、湿度、光照、化学及微生物等复杂因素综合影响下，其 DNA 总量损失很大，DNA 片段严重降解，能够进行 STR-PCR 的有效 DNA 片段减少，并且，这类检材往往含有大量未知杂质和抑制物，常常导致 DNA 检验失败。DNA 检验人员应当针对此类检材的特点，设计优化检验方案，提高检验成功率。

1 案情

2005 年 12 月 24 日，沂源县新奥塑料制品有限公司出纳刘方军利用职务便利携公司资金 22.6 万元潜逃，沂源县公安局穷尽常规手段，追逃工作毫无成效。2016 年 11 月，办案人员从刘方军配偶处提取其穿过的 T 恤 1 件送检（见图 1）。

2 DNA 检验

首次检验应用硅珠法检验，未得到有效 STR 分型。后期针对该生物检材特点，对检验方案进行调整、优化，按照如下方法进行提取检验：在 T 恤衣领部位剪取 4 处适量检材分别置于 4 枚带离心管的 COPAN NAO™ basket 提篮中，每份加入 200μL Promega Bone Incubation Buffer，50μL 20mg/mL PK，50μL 1mol/L DTT，56℃混匀仪裂解 4h。裂解完毕取出后以 13000rpm 离心 5min，舍弃提篮。将 MinElute © PCR Purification Kit 中的 PB 溶液与收集的 DNA 上清液按体积比 5∶1 混匀，13000rpm 离心 3min，取 700μL 上清液加入 MinElute © Spin Column 纯化柱，13000rpm 离心 1min，弃下层液体，并重复操作直到所有混合液全部过滤，加入 PE 洗涤液 700μL，13000rpm 离心 1min，弃下层液体，13000rpm 离心空管 2min，甩干残余液体，将纯化柱置于 1.5ml 离心管上，开盖室温挥发 5min，吸取

30μL 65℃预热的EB洗脱液加到纯化柱的硅膜上，65℃孵育5min，13000rpm离心2min，吸取下层液体再加入到硅膜上，再重复进行孵育、离心过程后，取下层液体用Identifiler™ Plus在9700扩增仪上进行扩增，反应体系25μL，模板DNA 10μL，30个循环。结果获得完整STR分型（见图2）。



图1　送检T恤

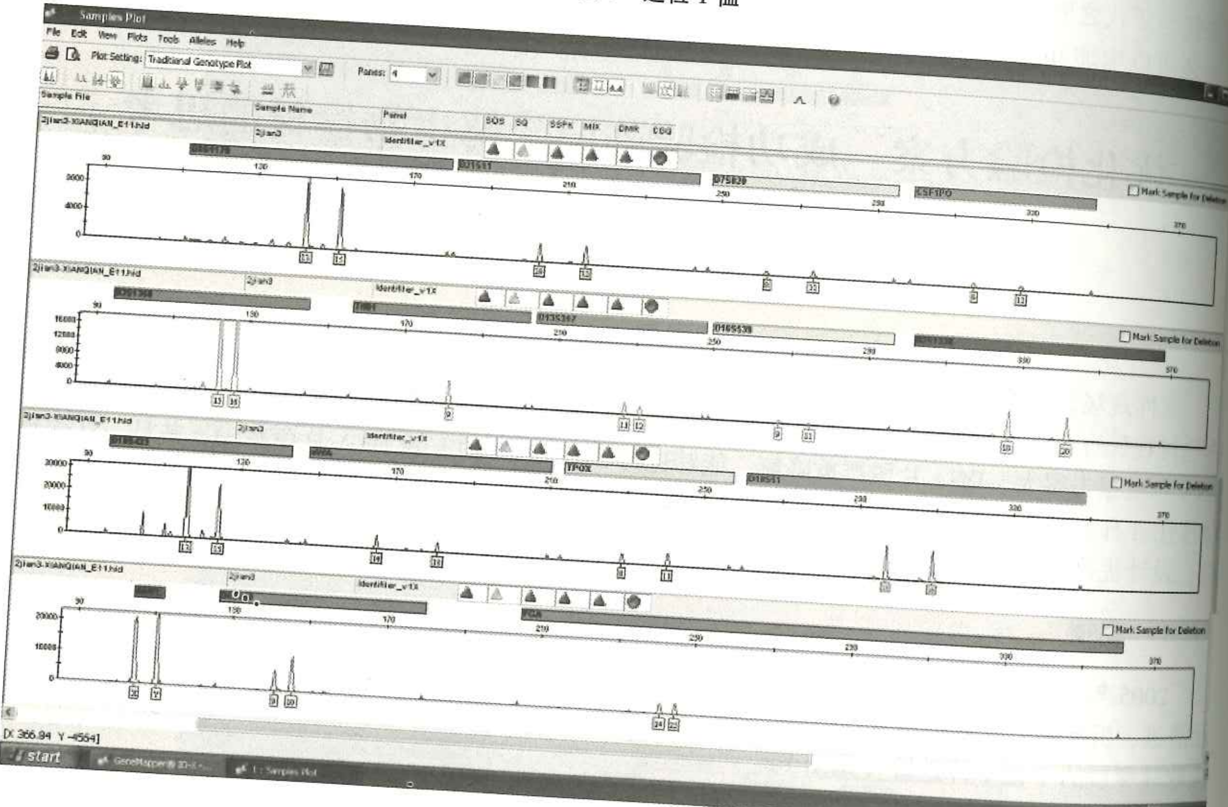


图2　T恤ID Plus试剂盒分型图谱

3　数据库比对与破案

对这件保存10余年的T恤进行检验，成功检出一完整的男性STR分型，经入库比对比中海南省公安厅2006年2月16日检验入库的样本名称为“20060127东方无名男尸”（系统编号L4600000002006021604671）（见图3），经过数据分析认为该无名男尸很有可能就是刘方军，至此，案件出现重大突破。办案人员立即赶赴海南开展工作，通过调阅卷宗、照片等资料，确定“20060127东方无名男尸”就是刘方军。



图3　DNA数据库应用系统比中截图

4　讨论

本案中的T恤被保存10余年，脱落细胞DNA随着时间推移降解严重，DNA含量少，并含有大量未知杂质和抑制物，当硅珠法、磁珠法等常规技术手段提取纯化效果不理想时，检验人员针对陈旧降解生物检材的特点，在检材前处理、检材裂解、载体转移、检材纯化等上游检验阶段进行优化，最终通过提高模板DNA浓度、纯度的方式，获得理想效果。首先，检材裂解阶段应用的COPAN NAO™ basket提篮底部采用特有的格栅技术仅在高速离心时，其底部的微孔开放，微孔孔径（<10μm）允许DNA分子滤过，同时微孔截留载体以及其他杂质，将裂解与载体转移步骤合二为一。骨骼孵化液含有的SDS是一种阴离子去污剂，可溶解细胞膜，使蛋白质变性、染色体解析，其含有的另一种成分Tris，可以为裂解试剂和蛋白酶K提供稳定的缓冲反应环境，在裂解过程中加入的蛋白酶K可以协同水解蛋白质，加入的DTT具有抗氧化作用，可以保护酶分子上的还原性基团，稳定酶的活性。MinElute © PCR Purification Kit试剂盒的PB溶液，可提供离子交换纯化柱中硅膜与DNA结合的特定环境条件，硅膜能有效吸附目的DNA片段，并选择性地滤过小片段DNA分子，PE溶液可充分洗去残留的蛋白质、盐离子、色素等杂质以及高度降解的DNA碎片，从而获取高质量的DNA模板，利用滤膜的独有的过滤式纯化方式打破前期裂解液容积受限的禁锢，检材前处理阶段采取“多点取材，富集一处”的方法，加大检材初始量，后期设计通过MinElute © Spin Column的过滤式纯化方式将多处取材时的裂解液以及其他杂质滤过并舍弃，实现检材的富集，从源头解决陈旧降解生物检材DNA量少的问题，实验中还用预热的EB洗脱液进行两次洗脱，提高洗脱效率，提升DNA浓度，获得高质量的DNA模板。

有条件的实验室，针对陈旧降解类生物检材在下游检验阶段采取设计更加靠近核心序列的引物或者应用MiniFiler、SNP等技术也是一种不错的选择。

DNA实验室气溶胶污染与消除

王卫华，刘　莉，周　腾
（山东省烟台市公安局刑侦支队，264003）

近年来，DNA检验技术发展突飞猛进，日新月异，在侦查破案中发挥了重要作用，但是技术人员在检验中由于种种原因也面临着技术挑战，DNA实验室污染时有发生，这些污染包括物证交叉污染、人员样本污染物证、现勘人员污染物证、试剂仪器交叉污染等现象，污染来的悄无声息，防不胜防，假阳性结果让无数DNA技术人员抓狂和崩溃，一旦出现将会给检验结果带来分析困难，甚至造成冤假错案，难以弥补，尤其是气溶胶污染，短时间难以消除，长时间存在于实验室，处理起来非常棘手，严重的甚至要关闭实验室，致使实验室不能正常开展检验鉴定工作。本文笔者结合气溶胶污染及查找文献，介绍气溶胶概念和特点、DNA实验室气溶胶污染产生的原因和来源、预防措施及消除方法，供同行参考与借鉴。

1　气溶胶的概念和特点

1.1　气溶胶概念

气溶胶是悬浮在大气中的固态和液态颗粒物的总称，粒子的空气动力学直径多在0.001~100μm之间，非常之轻，足以悬浮于空气之中。据计算，一个气溶胶颗粒可含48000拷贝，因而由其造成的污染是一个值得重视的问题。尽管气溶胶在大气中的含量相对较少，但如果它集中在一个密闭的实验室空间内，久之不去，在扩增过程中所起的负面作用却不容忽视。

1.2　气溶胶特点

（1）本身具有累积性，气溶胶浓度会随着扩增次数的增多而增大，积少成多，当达到一定量的时候，由量变到质变，就会形成DNA气溶胶团，结果轻者检出单人DNA分型，重者产生ladder现象。

（2）气溶胶团可动性，可以随着气流移动，在室内空气中、仪器设备中游荡。

（3）遇到液体溶解性，一旦DNA气溶胶团遇到扩增试剂、DNA模板等液体，便可溶解其中。

（4）试剂污染普遍性，若DNA气溶胶团游荡到扩增试剂中会造成扩增试剂污染，结果会导致所有检材整体被污染。

（5）检材污染偶然性，若DNA气溶胶团游荡到某一个检材扩增反应管中会造成单个检材污染。

（6）微量检材选择性，微量检材极易被气溶胶污染，微量检材DNA模板低，当微量检材DNA模板含量远远低于气溶胶DNA分子浓度时，检测结果主要为污染源DNA，当微量检材DNA模板含量与气溶胶DNA分子浓度相当时，检检测出包含二者的混合DNA分型。

（7）试剂系统污染单一性，即只在同一扩增试剂系统中会出现污染，若改换其他试剂系统扩增则不存在污染，主要是其试剂引物序列不同。

（8）污染不易消除性，气溶胶污染产生后，其消除需要十几天甚至几十天停止检验工作达到完全消除。

2　气溶胶污染产生的原因

（1）DNA实验室规章制度不健全。DNA实验室从建设之日起应建立健全的规章制度，并且在之

后的工作中随时发现问题及时改进。

（2）DNA技术人员操作不熟练。DNA技术人员特别是一些新参加工作人员，在操作时经验不足、不规范，手法不到位，极易造成污染。

（3）DNA实验室设计不合理。在DNA实验室设计上，尤其是早期建设的实验室，在功能分区、样本检材单向流动、缓冲区、风淋、正负压等欠缺。

3　气溶胶污染的来源

实验室产生气溶胶后，一般会在微量、接触检材和阴性对照中检出气溶胶污染源DNA分型，早期不易被发现，随着扩增次数的增多而污染源DNA图谱峰增高，此时空气中会有高浓度的气溶胶团，这个气溶胶团来源是前一次同批次扩增某一案件同一人的多个物证，且扩增后此人DNA浓度极高，实验室自身没有消化吸收掉，开盖后就会存在于空气中形成气溶胶团，进而污染下次扩增。还有就是DNA产物溶液污染桌面，后来成为固体颗粒随灰尘等到空气中，在操作时比较剧烈地震动反应管，开盖时、吸样时及污染进样枪的反复吸样都可形成气溶胶而污染。

4　气溶胶污染预防措施

（1）建立健全DNA实验规章制度，定期打扫实验室，保持台面整洁、地面清洁，擦拭、消毒移液器、扩增仪等设备，紫外线灯照射各个实验区，移液器专用、试剂分装等。

（2）规范实验人员操作，将每一项规章制度落实到每一名操作人员，养成自觉遵守规章制度的好习惯。

（3）调整改造DNA实验室，保证实验室各功能区分区合理，样本检材单向流动，设置缓冲区，扩增前试剂配制和扩增区严格分开，扩增室、检测室负压控制，其他区采取正压控制，保证高浓度扩增产物及时排出室外。

（4）旧实验室做不到正负压控制的，可将实验室及时开窗通风，扩增时将扩增仪放于通风柜内进行。

（5）保证实验室恒温恒湿，定期更换精密空调、超净工作台内过滤网。

（6）DNA检测结果及时入库，后期扩增若有污染便于入库比对发现。

（7）每次扩增时一定要加扩阴阳性对照，进行质量控制，确保扩增空白扩增图谱干净。

（8）检测上样打开离心管前先离心再开盖，将管壁及管盖上的液体甩至管底部，开管动作要轻，以防管内液体溅出，并在通风柜内操作。

（9）打扫扩增区、检测区的抹布、拖布要专用，不能再打扫其他区域。

（10）加样后的枪头要及时倒掉。

5　气溶胶污染的消除

（1）发生气溶胶污染后，要立即停止一切检验工作。除非特殊情况，可换用其他系统试剂扩增检测。

（2）查找污染原因，丢弃已污染试剂、耗材。

（3）彻底打扫清洁实验室。

（4）设有窗户的实验室，每天开窗通风，打开通风柜抽风换风，与紫外照射交替进行，连续进行十天。

（5）十天后做空白扩增测试，检测查看污染是否存在，若存在继续5.4操作，直至消除。

两种方法检验单根毛囊的比较分析

张 洁，黄怡文，庄小洁
（山东省日照市公安局，276800）

案件现场发现提取到的毛囊物证大多不能依靠现场条件直接判断为一人所留，因此多数情况下需要进行逐根检验，毛囊检材的有限性，检验方法的选择显得尤为重要，本文通过两种方法对毛囊进行检验的结果分析与对照，为案件现场的单根毛囊检验方法的选择提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 毛囊样本制备

选择 7 名无关个体，每名个体收集 2 根带有毛囊的毛发，共 14 根，分成两组并晾干。

1.2 主要仪器和试剂

ABI9700 扩增仪，3130XL 遗传测序仪，Chelex-100，Identifiler-Plus 试剂盒。

1.3 试验方法

1.3.1 直接扩增法

剪取 5 根毛发的毛囊放入 EP 管中，使用 Identifiler-Plus 试剂盒在 9700 扩增仪上直接扩增，扩增体系为 10μL，选择 28 个扩增循环，扩增产物在 3130XL 遗传测序仪上电泳检测，GeneMapper © ID-X 软件进行分析。

1.3.2 聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法

剪取 5 根毛发的毛囊放入 1.5mlEP 管中，加 300μL 去离子水，洗涤后加入 200μLChelex-100（5%）、10μLPK，56 度消化 2h，99 度变性 10min，混匀 10s 后 13000 转离心 3min。

分别取 1.0μL、2.0μL、3.0μL、4.0μL 上清，加入 Identifiler-Plus 扩增试剂中，总体系为 10μL，在 9700 扩增仪上 28 个循环扩增，扩增产物在 3130XL 遗传测序仪上电泳检测，GeneMapper © ID-X 软件进行分析。

2 结果

直接扩增法和聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取后扩增单根毛囊均能检出，但对于较为新鲜完整的毛囊组织，因其 DNA 含量较高，直接扩增法不能得到一个均衡的图谱（见图 1）。

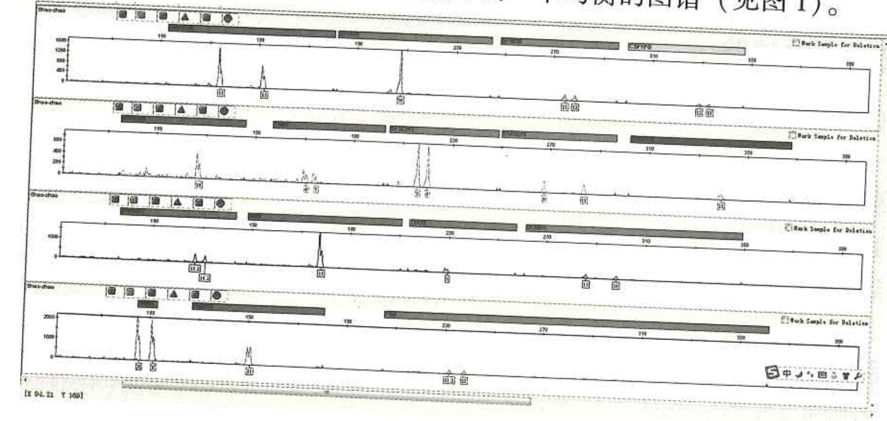


图 1 直接扩增法扩增单根毛囊

聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取单根毛囊后进行梯度扩增的结果显示，1.0μL 模板进行扩增检测得到的图谱具有较为合适的峰高和均衡性（见图 2），2.0μL、3.0μL、4.0μL 模板不能得到一个均衡的图谱（见图 3~图 5）。

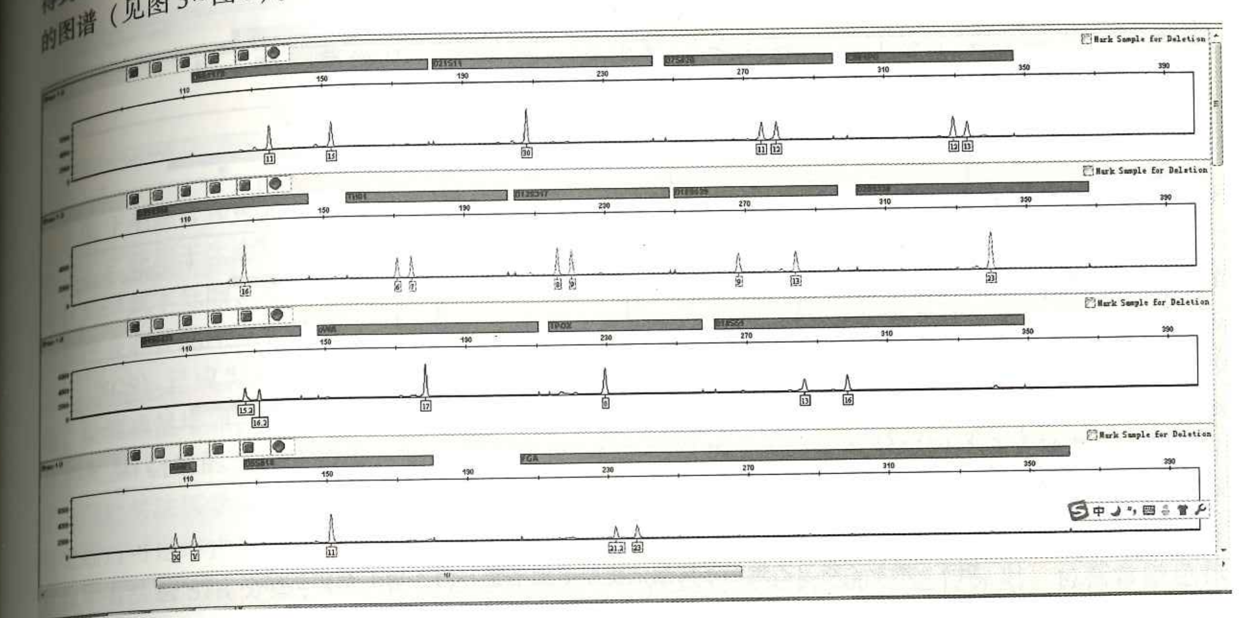


图 2 聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取单根毛囊并用 1.0μL 模板扩增

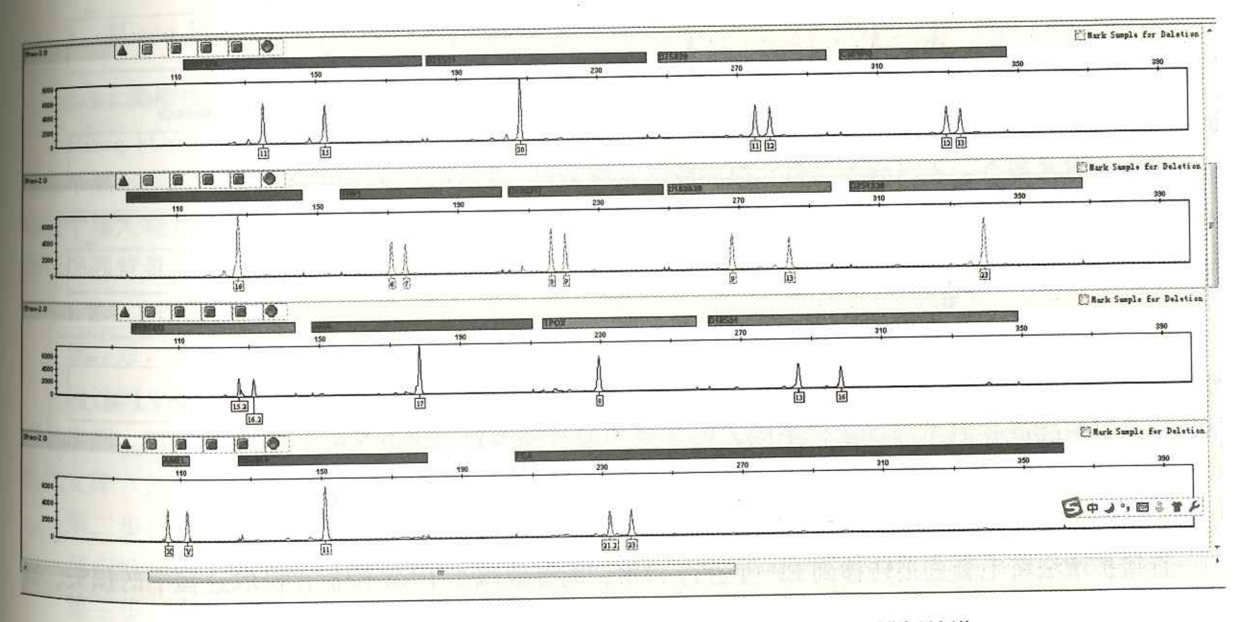


图 3 聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取单根毛囊并用 2.0μL 模板扩增

3 讨论

毛囊含有丰富的人体皮肤细胞，DNA 含量较高，但毛囊分为成长期、退化期和休止期，在三个周期内毛囊的组织结构会发生一定的变化，本文选用的毛囊为新鲜完整的毛囊组织，仅作为案件现场毛发物证的对照参考。

聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法通过一种化学螯合树脂 Chelex-100，螯合镁、钠和钾等多价金属离子，在加热的条件下使细胞膜破裂，蛋白质变性，通过离心除去 Chelex 颗粒，使其结合的物质与

DNA 分离，从而使进行下一步 PCR 的 DNA 去除了抑制剂和杂质，并防止降解。此方法适合于 DNA 含量较高、杂质较少的检材。

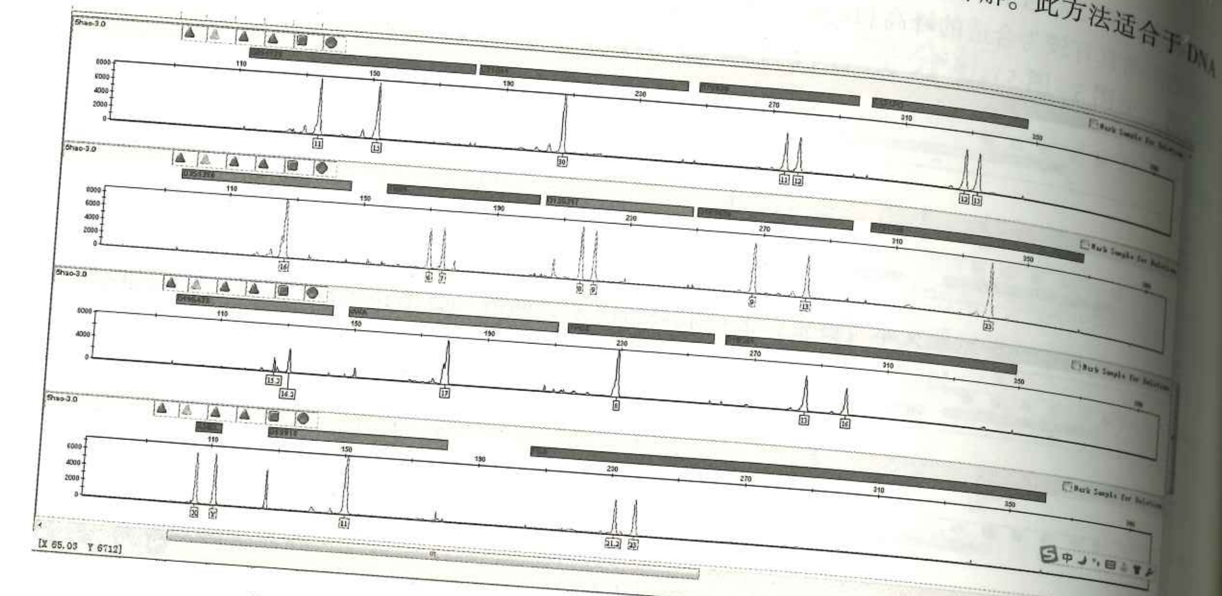


图 4　聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取单根毛囊并用 3.0μL 模板扩增

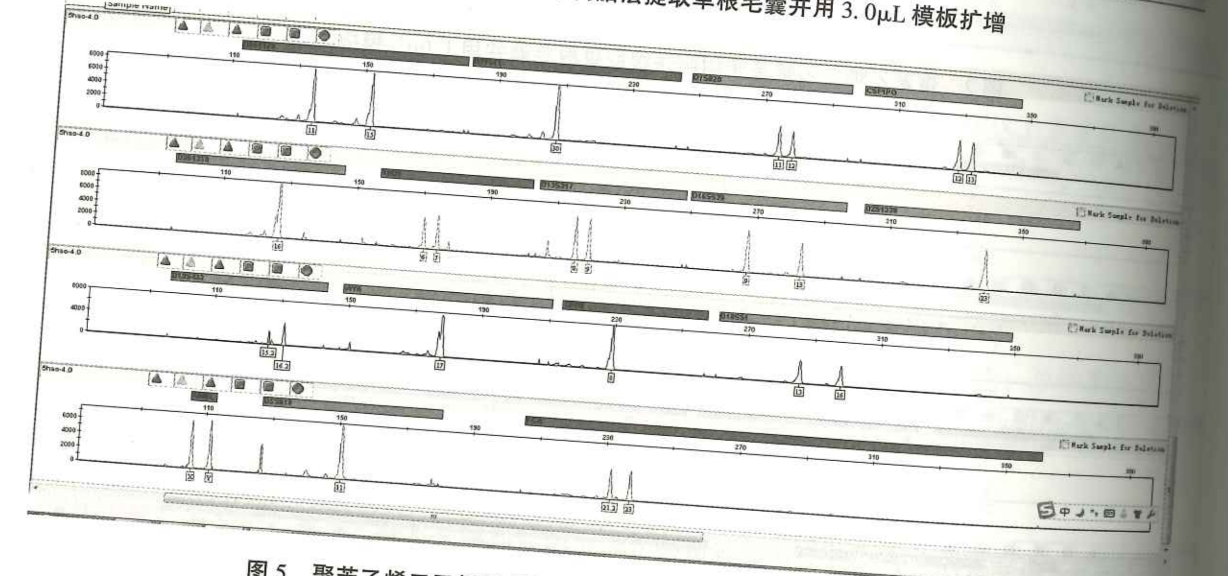


图 5　聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取单根毛囊并用 4.0μL 模板扩增

直接扩增法将毛囊直接转移到 EP 管进行 PCR，能有效减少 DNA 模板在提取过程中的损失，操作简单，节省时间，但其对检材的条件要求较高，且扩增之后检材不可复检。

本实验中两组样本的检验图谱对照来看，聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法比较适合对完整新鲜的单根毛囊进行提取检验，直接扩增法不能直接得到有效的数据。综上，对于单根毛囊，在提取方法的选择上，应综合考虑毛囊的条件因素，分析各种方法的优劣势，选择最为合适的检验方法。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析 [M]. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：40-41.

新一代测序技术法医学应用初探

伊　鹏，蔡纯良，吴庆玲，齐建英，李永超，王　瑗，王庆英
（山东省临沂市公安局，276004）

基于毛细管和荧光检测的双脱氧链末端终止法（Sanger 法）和化学降解法为标志的第一代测序技术，广泛用于生命科学相关领域，推动了法医物证学的发展，其测序特点是准确、可靠、读长大，并且测序成本低廉，是现阶段公安法医 DNA 实验室的主流测序装备。目前，以焦磷酸测序、边合成边测序及芯片测序三大技术为代表的第二代测序技术（又称下一代测序技术，Next Generation Sequencing，NGS）已成为基因测序尤其是高通量测序的主流。在充分保证测序精度的前提下，操作程序优化，检测通量增加，提供更多的基因信息。主要包括 Roche 公司的 454 技术、Illumina 公司的 Solexa 技术和 AB 公司的 SOLiD 技术。2015 年初，Illumina 公司基于 Miseq 平台利用边合成边测序技术推出了专门针对法医学应用的 Miseq FGX 二代测序系统（Miseq FGX Forensic Genomics Sistem）。其数据质量是通过可逆终止子方法实现的，测序环境稳定、原始数据质量可靠，其能够在单个检测流程中提供目前所有法医 STR 分型，而不再需要多次检测，一次运行可分析 200 个遗传标记，包括常染色体、X-STR、Y-STR 的组合。其配备的法医专用分析服务器可自动完成测序数据到基因命名的快速转化。

1　Miseq FGX 测序原理和工作流程

1.1　测序原理

MiSeq FGx 系统利用 Illumina 的边合成边测序（SBS）技术。该技术是通过可逆终止子的方法实现每个测序循环只能合成并检测一个碱基，当该碱基检测完成之后，才允许下一个碱基掺入。通过获得每个掺入碱基的信号强度来判断碱基类型，与其他方法相比降低了原始错误率。这种测序方法可以降低序列背景特异的错误。

1.2　工作流程

第一步：文库制备

通过两步 PCR 扩增来完成，第一个 PCR 步骤使用特异性引物扩增得到 DNA 样品中法医相关的目标序列。第二个 PCR 步骤是在扩增得到的目标序列中加入测序所需的样本标签和测序接头。然后纯化文库，并将所有样品文库合并在一管中，最后使其变性为单链。

第二步：准备上机测序。

把变性好的文库加入到 MisSeq ForenSeq Sequencing Kit 相应的孔位，上机测序。

第三步：变性和稀释文库，此流程稀释 HT1（杂交缓冲液）中的文库，添加 HSC（人类测序对照品），并加热使文库变性，上机测序。

2　Miseq FGX 测序法医专用试剂盒及数据分析系统

2.1　法医专用试剂盒（Forenseq DNA Signature Prep Kit）

MiSeq FGx 法医基因组分析系统为法医 DNA 样本分析提供了一套从 DNA 模板到数据分析的完整流程。ForenSeq Universal Analysis Software（UAS）包含了法医数据分析能力，包括混合 DNA 样本的检测及协助分析，群体统计学的生成和样本比较。UAS 目前只能提供国际人群（黄种人、黑人、白人及混血人种）的表型特征和先祖标记的评估。

2.2 数据分析系统（Forenseq Universal Analysis Software）

MiSeq FGx 系统具有的全自动分析检测数据的能力，有效地克服了法医技术人员使用二代测序系统的短板-NGS 冗长的数据分析过程。ForenSeq Universal Analysis Software 具有包括文库整体和单个样本水平的数据查看、STR 和 SNP 等位基因和基因型检出、STR 中序列变异的查看、合并基因型频率的统计学估计、先祖和表型的统计学估计、质量标记和自动化的报告生成。ForenSeq UAS 安装在该系统附带的独立服务器上，可操作性较强。

3 MiSeq FGx 系统的法医学应用

MiSeq FGx 系统是基于 Illumina 经典的 MiSeq 测序系统之上的法医测序系统，使用时也就同时具有法医专用模式和科研模式，可以完成常染色体 STR、SNP、线粒体全基因组、法医微生物学、microRNA 检测等基因组和转录组相关的测序应用。

法医专用模式下，提供了全面的 STR 和 SNP 信息，整合了法医案件和 DNA 数据库常用的 STR 基因座。在 DNA 模板量有限时，由于传统一代测序技术的限制，需要根据案件及检材情况决定采用那种短串联重复序列（STR）检测分析。一次检测获取高信息量的遗传数据较为单一。Forenseq DNA Signature Prep Kit 能够在单个检测流程中提供目前法医常用的大多数 STR 分型。另外，二代测序应用于法医检测的一个明显优势是能够分辨长度相同，但碱基序列不同的等位基因，提供更多的信息。

在分析部分疑难或降解的 DNA 时，ForenSeq DNA SignaturePrep Kit 中的短 STR 和 SNP 更易于被扩增出来，再结合 Illumina 边合成边测序（SBS）技术的固有灵敏度和低 DNA 起始量，为困难样本 DNA 检测带来了比传统 STR 检测更出色的检测能力。

2007 年 6 月，我市某小区发生一起一次杀死三人的杀人案件，技术人员在现场血迹中检出了除了三名死者之外的犯罪嫌疑人基因分型（见图 1）。基于该基因分型公安机关进行了大规模的常规 STR 和 Y-STR 排查工作，多年来一直没有锁定犯罪嫌疑人。笔者实验室对八年前现场提取的血迹应用 MiSeq FGx 系统进行了重新检验（见图2）。图 1 为 AB-3130XL 应用 Identifiler 试剂盒检测，图2 为 MiSeq FGx 系统应用 Forenseq DNA Signature Prep Kit 检测的结果，检测结果如下：

从两者检测结果来看，MiSeq FGx 系统应用 Forenseq DNA Signature Prep Kit 检测得到的结果完整的包含了 AB-3130XL 应用 Identifiler 试剂盒检测得到的全部 15 个 STR 位点信息，并且分型结果完全一致。

4 存在的一些不足和应用展望

笔者所在的法医 DNA 实验室有幸成为我国公安机关首个 MiSeq FGx 系统用户，Forenseq DNA Signature Prep Kit 试剂盒是一款国际化的试剂盒，其表型和先祖评估目前仅支持黄种人、黑人、白人及混血人种的区分，尚不能完全满足国内法医实验室在案件中的应用需求。该系统从检材 DNA 模板到检测出结果所需时间较长，并且相对一代测序操作复杂，这一点严重制约了该系统的常规使用频率。MiSeq FGx 系统上机试剂的通量为 96，不管是检测一个检材还是 96 个检材都要一次性使用完毕。现阶段我国没有新一代测序系统在法医 DNA 实验室应用的相关验证标准，使国内法医实验室对这项检测手段始终处在使用研究的初级阶段。

新一代测序系统必将成为未来法医 DNA 实验室发展的必然趋势，随着中国人群种族基因组学，尤其是汉族人群基因组学的研究深入，未来一定会推出符合中国人群特征的人群特征刻画（如人面部特征刻画）法医测序系统，从而增加这项检测技术在国内的实用性。未来随着该系统的测序通量灵活性应该会进一步完善，检测流程不断改进以及更多法医实验室验证数据的不断丰富，将会使其更容易推广至基层公安 DNA 实验室。伴随的将是国家出台一整套新一代测序系统在法医 DNA 实验室应用的相关验证标准，使其更好的应用到法庭科学领域。

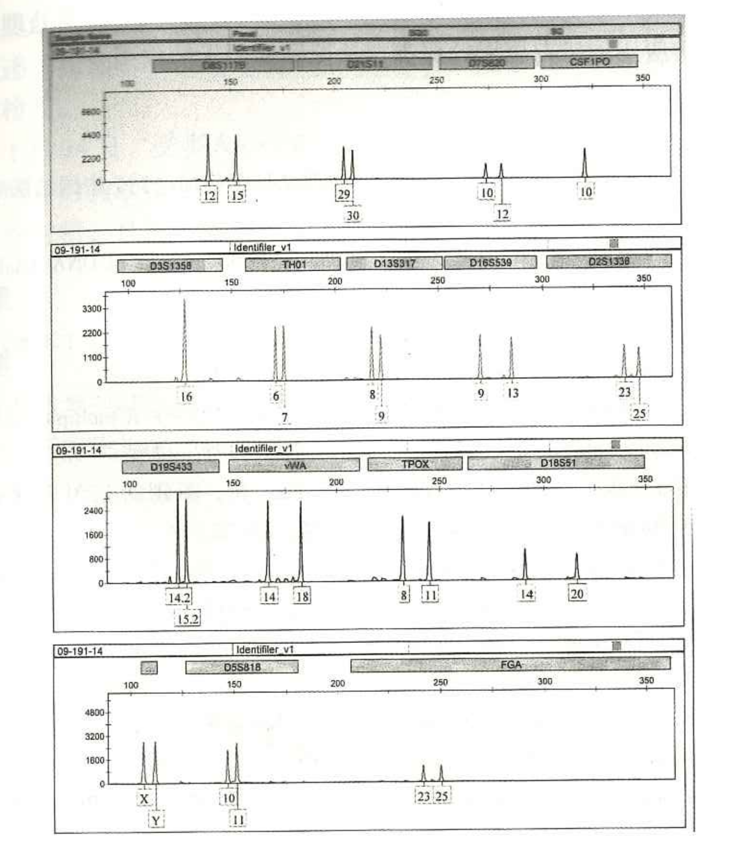


图 1

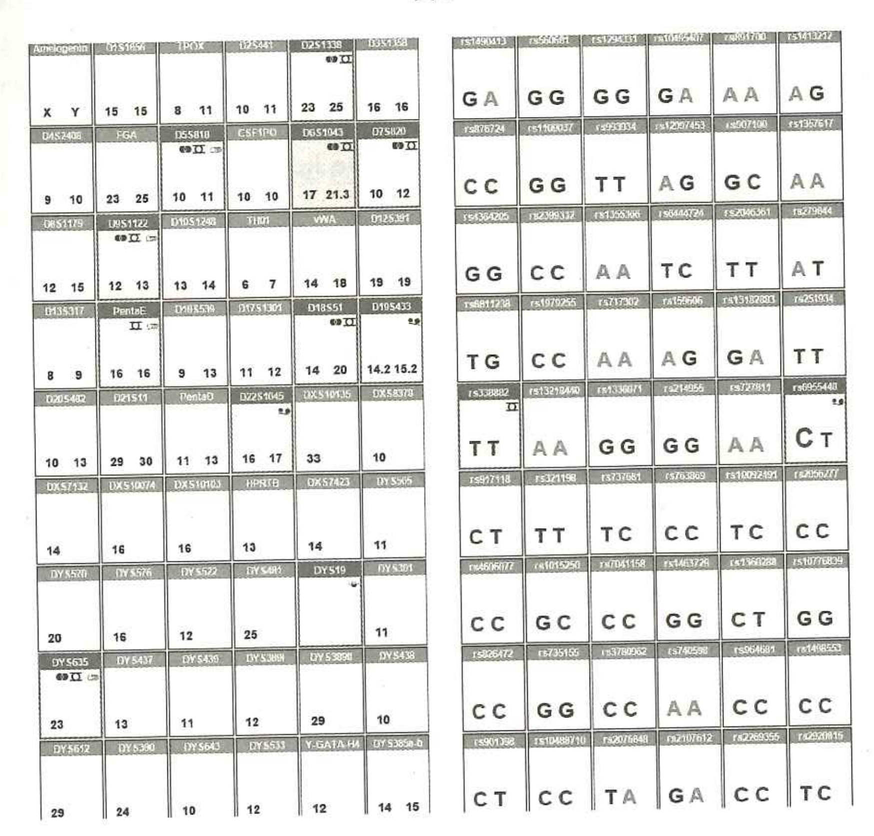


图 2

随着测序技术的不断发展和完善，人类基因组学的不断研究深入及数据处理方式的提高，必将使新一代测序技术在法医学应用领域有更大的提高，从而发挥更大的作用。

【参考文献】

［1］刘宇轩，张文琼，黄代新. 测序新技术 Ion Torrent PGM 及其法医学应用［J］. 中国法医学杂志，2015，30（1）：52-54.

［2］The full Miseq FGX System workflow is validated per the Scientific WorkingGroup on DNA Analysis（SWGDAM）guidelines（www. swgdam. org）.

［3］Kidd K. K.，Pakstis A. J.，Speed W. C.，Grigorenko E. L.，Kajuna S. L.，et al..（2006）Developing a SNP panel for forensic identification of individuals. Forensic Scilnt，164（1）：20-32.

［4］Sanchez J. J.，Phillips C.，Borsting C.，Balogh K，Bogus M.，et al..（2006）A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for humanidentification. Electrophoresis，27（9）：1713-1724.

［5］Kidd K. K.，Speed W. C.，Pakstis A. J.，FURtado M. R.，Fang R.，et al..（2013）Progress toward an efficient panel of SNPs for ancestry inference. Forensic Sci Int Genet，10：23-32.

［6］Walsh S.，Liu F.，Wollstein A.，Kovatsi L.，Ralf A.，et al..（2013）The HlrisPlexsystem for simultaneous prediction of hair and eye colour from DNA. Forensic Sci Int Genrt，7（1）：98-115.

［7］Illunina（2014）ForenSeq DNA Signature Prep Kit Date Sheet（www. illumina. com/products/forenseq-dna-signature-kit. limn）.

［8］Nakazato T.，Ohat T.，Bono H..（2013）Experimental design-based functional mining ang characterization of high-throughput sequencing data in the sequence read archive. PLoS One，22；8（10）：e77910.

［9］Bentley D. R.，Balasubramanian S.，Swerdlow H. P.，Smith G. P.，Milton J.，Brown C. G.，et al..（2008）Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. Nature，456（7218）：53-59.

［10］Ross M. G.，Russ C.，Costello M.，Hollinger A.，LennonN. J.，et al..（2013）Characterizing and measuring bias in sequence data. Gen Biol，14：R51.

［11］Liu L.，Li Y.，Li S.，Hu N，et al..（2012）Comparison of next-generation sequencing systems. J Biomed Bintechnol，2012：251364.

［12］Sebastian J.，Fritz J. S.，Karola P.，Andreas A.，Uwe J.，et al.（2013）. .

强奸案件中人精液 PSA 检测假阴性的思考应对

孙丹丹，马惠莎

（河南省洛阳市公安局物证鉴定所，471000）

强奸案件中 DNA 证据可以来源于精液斑、脱落细胞、血痕、毛发、唾液斑、阴道内容物（斑）等，特别是精液斑，它广泛存在于各类强奸案中，是性侵犯案件的铁的证据。阴道、肛门、卫生纸、衣物等都可能黏附有人精液斑，若需确证，人精液 PSA 检测是手段之一，但亦可出现假阴性的结果。文对特殊的假阴性情况进行归纳，以期为同类案件的鉴定提供借鉴。

1 案例资料

案例 1：2004 年 9 月 21 日下午 2 时许，某县受害人××（女，14 岁）在上学途中于玉米地内被人强奸杀死，后抛尸于某渠内。现场勘查，死者下身赤裸，采集阴道内容物。为增加 Y-STR 基因座数目于 2017 年 3 月再次送检。

案例 2：2015 年 9 月 23 日，受害人××在某区平民医院拆迁房内被人强奸。分别对现场提取的烟蒂、地面两处可疑斑迹、在犯罪嫌疑人遗留的车内提取的一副深色墨镜、受害人在医院内采集的阴道棉签拭子等检材进行检验。

案例 3：2017 年 1 月 24 日，受害人×××在某区某宾馆内被人强奸。分别对在现场浴室内提取到的被清洗过的受害人所穿的胸罩和内裤、受害人在医院内采集的阴道棉签拭子进行检验。据受害人陈述：犯罪嫌疑人系体外射精，且留于胸罩上。

2 检验与结果

2.1 紫外线检查

案例 3 中胸罩和内裤发现疑似精斑的荧光反应。值得注意的是，在紫外线下出现银白色荧光，不是精斑的特异性反应，不能作为确定精斑的依据。

2.2 确证实验-金标试纸检验法

分别剪取案例 1、案例 2、案例 3 中阴道内提取物少许；分别剪取案例 2 中地面两处可疑斑迹少许；将案例 3 中胸罩划分出六个重点区域，分别剪取 2cm×2cm 大小；剪取案例 3 中内裤上可疑斑迹少许。上述检材均按行标 GA 766—2008 中方法，经抗人精试纸检验，地面两处可疑斑迹结果为阳性，其余检材均为阴性。

2.3 DNA 提取

按行标 GA/T 383—2014 中 A. 2. 2. 2 中方法分离上述检材。

2.4 确证实验-精子检出法

取上述检材沉淀物 1μL 涂片，HE 染色镜检，案例 1、案例 2 中阴道内提取物以及案例 2 中地面两处斑迹、案例 3 中胸罩上部分检材检见精子，案例 3 中内裤及阴道内提取物均未检见精子。

2.5 STR 结果

案例 1 中阴道内提取物上检出陌生男性常染色体 STR 分型，与 2005 年检验的分型结果一致；案例 2 中，两处地面斑迹、阴道内提取物检出同一男性常染色体 STR 分型，后经比对与嫌疑人分型结果一致；案例 3 中胸罩上检出一男性常染色体 STR 分型，后经比对与嫌疑人分型结果一致，内裤及阴道内提取物未获 DNA 分型。

3 讨论

（1）前列腺特异性抗原（PSA）是由前列腺上皮细胞合成分泌至精液中的一种分子量大约 34000 的精液特异性蛋白质，本身很娇嫩，对紫外线、加热、脱水、强酸、强碱、重金属盐以及十二烷基硫酸钠（SDS）等物理和化学因素都很敏感。案例 1 中阴道内提取物及案例 3 中现场浴室内提取到的被清洗过的受害人所穿的胸罩经金标试纸检验法结果均为阴性，推测分别系保存、洗涤中因综合因素导致人前列腺特异性抗原抗原性改变；而精子富含二硫基，可以抵抗各类去污剂作用和外源蛋白酶水解，所以案例 1、案例 3 中上述检材均可查见精子。

（2）女性阴道是一个复杂的微生态系统，阴道内有 50 多种微生物，而霉菌、细菌等均可分解蛋白质。案例 2 中阴道内提取物经金标试纸检验法结果为阴性，而地面斑迹结果为阳性，推测系人前列腺特异性抗原在女性阴道内被分解。迄今为止，我实验室已受理检验此类强奸案件 17 起，均呈现阴道内提取物经金标试纸检验法结果均为阴性，而其相关的其他检材（诸如卫生纸、内裤、床单等）经金标试纸检验法结果均为阳性的现象。

（3）人精液 PSA 检测特异好、灵敏度高，是目前的常规技术，若检测结果为阴性，往往认为不存在人精液斑，会放弃检验。通过这几起案例，在日常检案中，对于阴性结果应保持审慎的态度，应

结合案情、其他相关物证检验结果、一步消化沉渣涂片的结果，避免漏检，为整个检验鉴定过程提供扎实的证据支持。

【参考文献】

[1] 冀强，王建文，等. P30 试验阴性检出精子基因型 1 例 [B]. 法医学杂志，2006，6：471-472

帽子上接触 DNA 提取方法的比较

郭晓涛，过　彪
（河南省鹤壁市公安局刑科所，458030）

1　前言

在本实验室受理的各类检材中，特别是打击“盗抢骗”专项行动以来，受理的帽子类检材有增多趋势。帽子类检材检出有效 DNA 的概率高，但不同的收集部位、提取、检验方法获取单一分型的概率不相同。

2　材料与方法

2.1　材料或研究对象

为保证能够得到犯罪嫌疑人的生物物证，笔者用剪取、植绒拭子（美国 AB 公司）两步擦拭、EZ-Tape（公安部物证鉴定中心研制）粘取、真空吸附（长春博坤）收集帽子上帽檐、额头、后脑部位接触 DNA。

从本实验室受理的 32 顶帽子上分别利用以上收集方法在不同部位各取检材 4 份。

2.2　提取方法

2.2.1　DNA IQ™（Promega 公司）法

（1）用 2.1 步收集到的检材，放入 1.5ml 离心管中，加入 300μL 的 Lysis buffer、20μL PK，混匀，95℃保温 30min，震荡去载体，13000rpm 离心 5min。

（2）将离心上清液转移至 IQ 试剂条 Lysis buffer 槽里，将试剂条放置 Maxwell 16 核酸自动提取以上，按照说明书的方法进行提取。

（3）提取产物用 40μL Elution buffer 洗脱，等待进入 PCR 程序。

2.2.2　手工 M48（Qiagen 公司）法

（1）用 2.1 步收集到的检材，放入 1.5ml 离心管中，加入 300μL 的 G2、30μL PK，混匀，56℃保温 1h，震荡去载体，13000rpm 离心 5min。

（2）将离心上清液转移至新的 1.5ml 离心管中，加入 900μL 的 MTL、30μL 的磁珠 B，放置到生物摇匀仪上吸附 15min。

（3）混匀后将样品管放在磁力架上，将磁力架和样品组合体反复颠倒，吸出溶液。

（4）加入 500μL 的 80%乙醇溶液，摇匀样品溶液，放在磁力架上，将磁力架和样品组合体反复颠倒，吸出溶液。(重复此步骤三次。)

（5）重复（4）步骤三次，最后一次去除所有溶液。

（6）将离心管放到加热块上，打开管盖，65℃烘干。

（7）在每个离心管中加入 38μL 水，65℃孵育 5min。

（8）从加热块上取下离心管，13000rpm 离心 1min，迅速置于磁力架上，将溶液转至 0.5ml 离心管中，等待进入 PCR 程序。

2.2.3　Star let 工作站（Auosbio 公司）法

（1）用 2.1 步收集到的检材，小心放入工作站用 96 孔提取板中，然后放在 Stra let 前处理工作站上指定位置。

（2）按照说明书的方法进行提取。

（3）提取产物用 30μL 洗脱液进行洗脱，等待进入 PCR 程序。

2.2.4　Chelex100 法

（1）用 2.1 步收集到的检材，放入 0.5ml 离心管中，按照 GA 383—2014 的方法进行 DNA 提取。

（2）取离心后上清，等待进入 PCR 程序。

此外，还可利用 Identifiler © plus 试剂在 ABI9700 扩增仪上进行梯度复合扩增（扩增采用 10μL 体系，其中样品分别为 4μL、3μL 、2μL），扩增产物在 ABI3130 Genetic Anlisyer 上进行检测，检测结果利用 Gene Mapper3.0 软件进行分析得到结果。

3　结果统计

将以上实验获得有价值图谱（含 13 个 STR 基因座以上的单一分型）的结果进行统计，得到下表：

部位	提取方法 / PC上样量 / 收集方法	DNAIQ 法			手工 M48 法			工作站法			Chelex100		
		4μL	3μL	2μL	4μL	3μL	2μL	4μL	3μL	2μL	4μL	3μL	2μL
帽檐	剪取	12	15	18	16	14	18	14	13	15	11	10	10
	植绒拭子	12	13	13	14	13	13	11	11	10	9	9	8
	EZ-Tape	16	15	14	15	15	14	13	12	13	10	9	10
	真空吸附	9	10	9	10	10	10	7	7	7	6	5	5
额头位	剪取	19	21	23	22	26	28	19	20	20	12	13	13
	植绒拭子	14	14	14	15	15	15	10	10	10	8	7	5
	EZ-Tape	16	16	15	16	17	17	18	19	19	7	7	5
	真空吸附	11	10	10	11	11	10	9	9	7	8	6	5
后脑位	剪取	21	24	24	24	25	25	19	19	19	13	10	8
	植绒拭子	13	12	12	13	13	13	11	11	10	10	9	8
	EZ-Tape	15	15	14	16	15	15	13	13	13	12	9	9
	真空吸附	15	14	12	14	12	12	10	10	10	9	8	9

4　讨论

在本实验室受理的各种盗窃案件中，现场能够提取到血液、烟头、毛发等常规检材的案件越来越少，而帽子、手套等含有接触 DNA 的检材越来越多。本文中的统计结果表明，剪取帽子的额头位，用手工 M48 法提取样品后梯度扩增得到有价值单一分型的机会较大。上述统计表格只反映了一个方

面，从本次实验中，笔者也有意外收获，如有些帽子无帽檐、有些帽子前后左右无法分辨，只能进行分段提取。利用植绒拭子两步法擦拭帽子获得分型的机会比较小，笔者分析可能是帽子的渗透性较好，利用植绒拭子获得的 DNA 数量较少。相对比较干净的帽子利用 Chelex100 法也有较大的机会获取有价值的分型。利用剪取植绒拭子和 EZ-Tape 无法获得有价值的分型时，采用真空吸附配合 DNA IQ 法或手工 M48 法也有较大机会能从帽子上获较完整的 STR 分型，但以混合分型为主。当利用剪取、植绒拭子两步擦拭、和真空吸附均获得混合 STR 分型时，利用小型号的 EZ-Tape 进行粘取，偶尔能获得有价值的单一分型。

浅析 DNA 实验室技术人员加强现场勘查及临场指导能力的必要性

于民强，赵　爽

（江西省长垣县公安局，453400）

近年来，刑事案件呈逐年上升的趋势，但破案率上升幅度不够理想。犯罪分子作案手段不断提高，刑事犯罪活动也随之智能化、专业化、技术化，加上犯罪分子对现场的伪装和破坏，使现场遗留的痕迹物证越加稀少，增加了现场勘查部门提取有价值的生物物证的难度，令物证提取率和 DNA 检出率无法提升。因此，增强 DNA 实验室提升现场勘查和临场指导能力刻不容缓。

1　指挥到位，组织合理，分工明确

犯罪现场勘查的指挥、组织、分工是否科学、合理，勘验检查是否全面，侦查方向是否准确，侦查范围是否合理划定，均与现场勘查的指挥和组织有着密切的联系，同时对生物物证的发现率、DNA 检验检出率一样具有十分重要的意义。

现场勘查指挥是现场勘查工作有次序、有计划、有步骤地顺利进行的重要保证。它是指勘查指挥员为了保证现场勘查任务的顺利完成，根据现场实际情况对现场情况进行统一安排，对勘查人员进行合理分工的活动。主要任务有三项，第一，现场勘查开始时，指挥员要认真听取派出所处警人员对现场情况的汇报以及群众的反映。第二，巡视现场，了解现场整体情况，了解案件性质，分析案情。第三，根据不同任务分工明确到相对应的人。

2　重视现场保护，扩大保护范围

实际工作中，当一个案件发生后，往往不重视现场保护，特别是一些普通的刑事案件，由于现场保护意识不够，无论案件大小，首先到达现场的民警应根据案情来设警戒线，把保护现场放在第一位。

3　重视一般案件现场勘查，提高生物物证破案率

重视勘查一般盗窃案件现场，获取窜、并案和侦破重、特大刑事案件的机会。一般情况下，重特大盗窃案件犯罪嫌疑人为了毁灭罪迹，逃避罪责，不仅案前经过仔细周密预谋活动，而且故意将其在作案过程中形成的原始现场结构和潜在生物物证进行伪装破坏，企图转移侦察视线逃避打击。而“小案”犯罪嫌疑人在现场上随意性大，反侦察意识薄弱，遗留各种生物物证（如烟头、汗液、物件上的脱落细胞等），相对来说没有“大案”谨慎，特别是案后对现场结构的改变和伪装较少，收集大量原始和直接犯罪生物物证也就成为可能。通过“小案”获取物证，以小案现场遗留物为线索或突

破口而破获大案、系列案、团伙案的例子比比皆是。

4　防范 DNA 污染，重视物证保存

在犯罪现场的破坏形式中，在关注形态性破坏的同时还应重视非形态的污染，特别是 DNA 的污染。防止无关人员在交谈等无意间造成 DNA 的污染，影响提取。因此现场勘查和保护过程中，需要做到：

(1) 不随意触摸现场物品，防止破坏 DNA。

(2) 任何人员不得在现场内吸烟、喝水，吃东西。

(3) 不能随意使用现场电话。

(4) 不能在现场大声讲话，轻易打喷嚏、咳嗽，以免唾沫飞溅到可能留有 DNA 的客体上，造成 DNA 污染。

(5) 在提取和装盛证据时，不可触摸自己的面部、鼻子、头发等。

5　重视关联现场

关联现场是指除主体现场之外的与犯罪行为有关的一切场所，如外围现场、抛尸场所、销赃场所、预付场所等。在勘查过程中，有些勘查员往往只重视中心现场，对关联现场不闻不问，草草了事。事实上，在关联现场上，由于作案人的警惕性降低，伪装、掩盖现象较少，反而比较容易在不经意间留下生物物证。

对关联现场的勘查不仅是全面揭示案情的需要，更是发现生物物证不可遗忘的重要场所，勘查人员要充分发挥不怕苦不怕累的精神，重视关联现场，提高现场生物物证提取率，防止造成勘查上的遗漏。

6　增强勘查人员的证据意识和素质

现场是证据的“藏身之地”，现场勘查作为侦查破案的重要措施，关系到立案、侦查、起诉乃至审判。为此，现场勘查人员的证据意识、专业素质和细心程度关系着生物物证提取率 DNA 检验检出率的高低。

现场勘查人员作为现场勘查的主体，在整个勘查过程中起着至关重要的作用。现场勘查工作的特殊性要求勘查的技术人员具备较强的证据意识，有高度的责任心。只有思想上重视，行动上才会细致。要根据现场的状态来划分生物物证可能的分布区域，然后在一些隐蔽区域寻找；还要注意现场的反常部位和特殊情况，正如李昌钰博士所说：“在现场勘查中，我们要特别注意发现那些反常现象，或者说那些与我们假定的案件性质不吻合的现象”。

7　多学习，勤思考，用专业技能武装自己

过硬的业务素质是提高现场勘查效率的重要条件。不可否认，现场勘查的生物物证提取率、DNA 检验检出率不高与勘查人员的业务素质有关，由于当前现场勘查工作任务重、压力大，而技术员接受培训教育的机会少，他们所掌握的勘查方法和技术已跟不上新形势的犯罪手段和新时代对物证提取率的要求。所以，只有通过加强对勘查人员的教育，让他们不断学习先进技术，增强专业技能，才能使他们在错综复杂的现场环境中，灵活运用已经掌握的知识来分析案情，有助于更快、更有效地发现并提取生物物证。技术员应当在日常现场勘验过程中，做到不论案件性质、案件价值的大小都要积极发挥主观能动性，积累现场勘验的知识和技巧，熟练运用各种生物物证的发现设备，从而提高现场生物物证的发现、提取能力。

加强 DNA 实验室技术人员现场勘查及临场指导能力已成为勘查现象的必备专业技能，根据洛卡

德博士的证据动力学之物质交换原理，“没有不留痕迹的现场，也没有天衣无缝的伪装。”任何犯罪现场凡发生必留下痕迹，微量物质必存在于犯罪现场。李昌钰博士也说过：“作刑事鉴识工作，在现场任何事情都可能发生，没有弄清事实之前不能下结论。让证据说话，有多少证据就说多少话。”作为现场 DNA 勘查技术员的首要任务便是尽可能地寻找这些证据，如果我们能做到以上七点，一定能提高现场勘查提取率，并且做到规范提取，杜绝生物检材污染，大大提高生物检材的检出率，从而获得更多更完善的现场犯罪嫌疑人 DNA 信息，为让证据说话，侦查破案服务。

人员 DNA 样本规范化采集

赵　爽，于民强
（江西省长垣县公安局，453400）

笔者长期从事人员 DNA 样本规范化采集工作，参考其他单位工作经验并结合工作实际，总结出以下有关人员 DNA 样本规范化采集、送检等工作的细节及注意事项。

1　岗前培训

对全局各采集单位有采集任务的民警统一进行业务培训，经培训合格后方可上岗进行血样采集工作。

2　规范采集

（1）通过常住人口信息查询系统认真核实被采集人的身份。

（2）按照要求将人员信息填写在采血卡上，人员信息包括姓名、性别、民族、身份证号码、户籍地、现住址、采集单位、采集时间、采集人、采集理由等。特别是采集理由，需填写该人案由情况。字迹应工整、清晰，填写应完整，确保准确、详细。

（3）采样前准备好采样工具，确认人员信息正确，不得污染点样区域。采样后，将样品置于干净、阴凉干燥处，待样品全部干燥后装入采样盒送检。采集多人时，切忌将样品错装，并及时送检。

3　采血工具

包括采血卡、采血针、一次性手套、医用酒精、消毒棉签。

4　采血方法

采样员采血时须戴上一次性薄膜手套，在被采集人手指部位轻轻揉搓，待手指充血后，即用医用酒精棉签由手指中央向外围进行消毒，待酒精稍干，捏紧手指，用采血针快速扎破皮肤，稍挤压，将血均匀涂在点样区域（以 5 ~ 6 滴饱满血为宜），采血完毕用棉签压住伤口。血样晾干后放入采样盒中。

5　采样送检

采集的样本应妥善保存，送检前务必核实有关信息，剔除同一采样对象的重复样本。

6　注意事项

（1）采血部位必须严格消毒，防止污染，采血针一次性使用，采样员采样时必须戴上专用手套，不得直接接触样本，避免交叉污染。

（2）样本应自然晾干后，置于阴凉干燥处保存，切不可用烤、晒或热风吹等方法烘干。

（3）样本放入采样盒前要仔细核对，确保样品信息正确无误。

（4）采血过程中，采样员须注意自身的安全防护。

血样采集是一项长期而细致的工作，为实现准确无误的录入人员信息，对接全国 DNA 数据库，让全国 DNA 数据库更好地发挥作用，为侦破案件打好基础，认真而坚持的采集和录入是不可或缺的。

对如何采集攀爬入室盗窃现场人体生物物证的思考

姜　涛[1]，杨志立[2]
（1. 河南省焦作市公安局山阳分局，454000；2. 河南省焦作市公安局犯罪侦查支队，454000）

攀爬入室盗窃案件具有极大的危害性，有可能演变成抢劫、杀人案件，已经严重影响人们的日常生活，同时也引起了各级公安机关的高度重视。笔者结合本辖区内的此类案件现场的特点，谈谈对现场勘验过程中人体生物物证采集部位和采集方法的一些体会。

1　易留下人体生物物证的重点部位

1.1　攀爬过程中借助的载体

犯罪嫌疑人在攀爬时借助的载体大致包括窗外防护栏、楼房的外设下水管、煤气管道及楼道窗。当选择位于低楼层的目标时，犯罪嫌疑人通常采用攀爬其下层住户的窗外护栏或楼房的外设下水管等方法进入室内，当然也有利用自制的攀爬工具（如组合连接管、带钩的绳索等）入室盗窃的；而当选择相对较高楼层的目标时，有时则采用先设法进入楼内，然后通过最接近目标窗口的楼道窗或相邻的空置房屋进入室内的手段。由于楼房的外设下水管及楼道窗在平时基本没有人接触和打扫，如果结合现场勘验情况，能够分析出犯罪嫌疑人采用的作案手段，那么在楼房的外设下水管的外壁上或楼道窗户上很容易提取到比较新鲜的指纹痕迹、在楼道窗的窗台上提取到犯罪嫌疑人的足迹（通常为减层）。

1.2　进入口处的支撑点及物品

犯罪嫌疑人在打（撬）开窗户后进入室内时，经常会用手扒住窗户的内侧下沿（指尖向下）或窗户的侧沿（指尖向内）；如窗台上有物品时，犯罪嫌疑人通常会将物品移开；而当其由窗户进入后，窗口处周围内侧的墙壁上、窗口附近摆放的物品上、操作台面上往往会成为犯罪嫌疑人的支撑点。因此，重点对上述几个部位进行勘查，分析其形成的原因，往往能提取到可靠的犯罪嫌疑人指纹（可能会是连指指纹）或足迹。

1.3　犯罪嫌疑人在作案过程中的重点部位及作案过程中无意识的接触点

重点部位如被翻动的柜子、抽屉、盒子、钱包等，在这些部位一定会留下犯罪嫌疑人的蛛丝马迹；犯罪嫌疑人在进入室内后，由于光线黑暗及不熟悉环境，因此会无意识的触摸门框、墙壁、行动路线两侧的家具等物品，所以对以上各个部位的仔细勘验往往可能提取到犯罪嫌疑人的指纹痕迹；在室内、过道及犯罪嫌疑人活动区域的地面上，由于犯罪嫌疑人为了防止惊醒失主而脱掉鞋子或伏在地上爬行，所以有时在上述区域的地面上，往往也能提取到犯罪嫌疑人的手印或足迹，而且是比较可靠的。值得注意的是：上述情况下所提取到的手印和足迹必须要认真与事主等进行排除，方能认定是否为犯罪嫌疑人所留。

1.4　逃离现场路线上遗留的物品

犯罪嫌疑人在作案后一般会从原路逃离现场（也有会从房门逃离的），注意对其逃跑路线上一定

范围内进行搜索，有时也会提取到有价值的痕迹物证。在攀爬入室盗窃的案件中，犯罪嫌疑人一般会选择性的盗走现金、金银饰品、手机等易携带的物品，而对于没有利用价值的其他物品如衣裤、公文包、信用卡、手机套及记事本等就会随手丢掉。笔者就多次在犯罪现场的地面上、楼道中或在楼下附近搜索到事主的上述物品。因为这些被丢弃的物品都是犯罪嫌疑人接触过的，所以在这类物品上往往可能会提取到嫌疑人的指纹或DNA等其他有价值的痕迹物证。

以上主要是针对未戴手套的作案的现场，对戴手套作案的现场，除了提取相关的微量物证外，在以上重点部位也可能提到有价值的痕迹物证，如手印（犯罪犯罪嫌疑人在作案过程中因某种原因摘掉手套时所留）、足迹等。

2 人体生物物证采集原则

（1）因为在目前条件和水平下，人体脱落细胞的DNA检验成功率仅20%左右，故现场勘查中手印和赤足印等物证以应采集痕迹为主，采集人体生物物证为辅。

（2）因为使用物理或化学方法处理后的手印和赤足印难以进行有效的DNA检验，所以当发现的手印、赤足印无纹线或虽有纹线但经现场检验判断无进一步检验鉴定价值时，应优先采集人体生物物证。

（3）如果能够通过照相等无损方法发现提取手印、赤足印且不影响鉴定时，应优先使用照相等无损方法提取手印、赤足印，再采集人体生物物证。但应避免紫外光源长时间直接照射以防止对DNA物质的破坏。

（4）分部位提取。当手印、赤足印等痕迹物证数量较多，能同时满足既采集手印、赤足印又采集人体生物物证时，应划分区域进行分部位提取采集。其中，纹线条件好、特征价值高的手印、赤足印的部分以采集痕迹为主；纹线条件差、特征价值低的部分以采集人体生物物证为主。

（5）咬痕优先采集人体生物物证，再进行痕迹采集。

3 人体生物物证采集方法

（1）如果高光、镜面、透明客体有汗迹，但经勘查检验发现没有进一步检验鉴定的手印、赤足印纹线时，勘查技术人员应用无菌水湿润的棉签进行两步法提取采集，不进行潜在手印、赤足印的物理或化学显现。

（2）在不影响鉴定的前提下，当手印、赤足印能够通过照相提取时，勘查人员应先用照相方法提取，并确认效果后，用无菌水湿润的棉签采集人体生物物证，不进行潜在手印、赤足印的物理或化学显现。

（3）属于连指（趾）手印、赤足印时，勘查人员先确定纹线条件好、特征价值高的部分，照相固定后用无菌水湿润的棉签小心提取纹线条件差、特征价值低的部分的人体生物物证，再采用物理或化学方法显现提取纹线条件好、特征价值高的部分的痕迹。

（4）对于平面咬痕，勘查人员照相固定后用无菌水湿润的棉签采集人体生物物证。

（5）对于立体咬痕，如果需要制模，勘查人员先用无菌水湿润的棉签采集人体生物物证，并注意不破坏咬痕的形态和特征。

（6）对于表面光滑、非渗透性的勒颈绳索，勘查人员先用无菌水湿润的棉签擦拭打结部分采集人体生物物证，再进行绳结等的研究。

实践中，上述办法能够大幅度提高现场人体生物物证的有效采集和综合利用，从而在侦查破案中发挥重要作用，但同时也对刑事技术各专业如影像、痕迹、法医、DNA等的密切合作提出了更高的要求。

植绒拭子在毛巾、手套、衣服上处理脱落细胞尝试应用

杨新伟，赵江涛，兰丽杰
（河南省三门峡市公安局刑侦支队，472000）

1 材料与方法

1.1 样本

毛巾、手套、衣服各20份检材备用。

1.2 试剂与设备

9700型PCR扩增仪（AB公司），3500型遗传分析仪（AB公司），PP21试剂盒（普洛麦格公司）。

1.3 方法

（1）脱落细胞的收集。对同一种检材分别采用三种不同的方法进行收集转移。第一种方法采用脱落细胞粘取器用力粘取可疑部位。第二种方法采用脱落细胞吸取仪进行吸附。第三种方法取植绒拭子蘸少许生理盐水，轻轻转动檫拭检材表面后，放入过滤柱离心管中。

（2）DNA提取加入220μLBTA裂解液，3μL 1M DTT，7μLPK，再加入230μLPreFiler™ Lysis Solutlon.。56^0温浴震荡40min。转移至AutoMate Express™自动化法医DNA提取系统进行自动提取。

（3）扩增及电泳 使用PP21试剂盒进行PCR扩增，样品扩增体积为25μL，DNA模板量为1.2~1.4μL。扩增产物通过3500XL遗传分析仪检测，GeneMapper ID-X软件分析。

2 结果

三种不同的脱落细胞收集方法所得STR检验结果见下表。

检材 \ 方法	粘取		吸附		植绒拭子	
	完整STR分型（检出率）	阴性或无效图谱	完整STR分型（检出率）	阴性或无效图谱	完整STR分型（检出率）	阴性或无效图谱
毛巾	12（60%）	8	15（75%）	5	16（80%）	4
手套	15（75%）	8	18（90%）	2	18（90%）	2
衣服	14（70%）	6	15（75%）	5	17（85%）	3
合计	14（68%）	22	16（80%）	12	17（85%）	9

使用植绒拭子的20例毛巾样本中，16例获得完整图谱，检出率为80%；20例手套样本中，18例获得完整图谱，检出率为90%；20例衣服样本中，17例获得完整图谱，检出率为85%；

3 讨论

当前实验室对上述检材DNA的收集方法主要有三种：第一种脱落细胞收集仪，该种方法吸附不受面积影响，但载体的杂质可能影响检出率。第二种是脱落细胞黏取法，该方法如果载体杂质过多，可能导致黏性下降而影响检出率。第三种方法是传统的剪取法，该方法由于剪取面积有限，可能会由于剪取部位的偶然性影响检出率。

4N6FLOQSwabsTM 植绒拭子具有独有的尼龙纤维植绒填充技术，能最大的提高 DNA 采集和洗脱效率。我们通过在实际检案中对此类检材的尝试，认为根据实际检材情况，选用植绒拭子擦拭提取 DNA，对提高检出效率从而获得有价值的 STR 数据，也是一种不错的选择。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 北京：中国人民公安大学，2002：122-125.

[2] 彭建雄，周毅，陈松，等. 一种收集衣服上脱落细胞的新方法［J］. 刑事技术，2006（5）：6-7.

就“DNA”证据在刑事诉讼中的效率探讨

杨新伟，曾立明

（河南省三门峡市公安局刑侦支队，472000）

DNA 证据在刑事诉讼过程中发挥着越来越重要的作用，而随着我国司法改革的深入以及法院审判方式的改革，DNA 作为刑事案件的重要证据，在法庭活动中将受到来自各方面的考验，这就对 DNA 检验整个过程提出更加严格的挑战。作为 DNA 检验鉴定人员，就更应该保证整个检验过程的科学性、准确性与客观性，以更好地在法庭审判中发挥作用。

1 DNA 证据在刑事诉讼中存在的问题

1.1 DNA 检验过程委托送检的程序缺乏有效监督

虽然公安部和省公安厅都出台了 DNA 提取送检制度，但在基层还是存在一些重结果、轻程序的问题，尤其在一些重大案件的侦破过程，往往为了快速检验而忽视送检程序，导致送检程序方面存在不符合规定的现象。

1.2 DNA 检验过程缺乏规范

DNA 结果具有科学性、稳定性的优势，但由于 DNA 检验过程复杂，环节多，涉及检验人员、检验方法、检验程序、检验设备等多方面的因素，任何细微的疏忽或失误都可能影响鉴定结果的准确性，不按照 DNA 检验行业规范的随意性操作，将会导致鉴定结果在法庭活动中失去其权威性，从而失去法律效力。

1.3 DNA 检验结果在司法活动中被盲目应用

DNA 检验结果只是整个案件众多证据中的一环，只是解决案件涉及的技术问题，只是对一种客观事实的呈现，不是对有关事实做法律评价，但由于认识的问题，在司法实践中往往会被过分解读和盲目应用，导致司法人员对 DNA 结果的过分依赖，不能综合对全部证据效率进行分析，极易影响对案件的正确判断。

2 加强完善 DNA 检验过程和在法庭活动中的应用

2.1 严格执行 DNA 检验鉴定操作程序

要保证 DNA 结果准确可靠，就要保证整个检验过程的溯源，而要保证结果的客观和科学，就必须保证整个检验鉴定过程有章可循，有规可依，有据可查，严格按照 DNA 技术标准化和质量控制体系进行操作。对实验室的建设、管理、人员，程序等影响鉴定质量的所有因素都应严格按照准则进行有效控制、科学管理和规范操作，以保证 DNA 检验结果的公正、规范、科学、准确、可靠。

2.2 提高鉴定人员技术，规范鉴定报告，确保鉴定意见科学严谨

新刑事诉讼法对证据提出了更高的要求，而鉴定人员科学运用 DNA 检验鉴定技术是确保 DNA 检验结果的证据效力的关键。为确保鉴定结果的科学有效性，必须加强队伍建设，注重人才培养，不断提高检验鉴定人员的能力，使之与 DNA 技术的发展相适应。同时还应加强检验鉴定人员的质量控制意识，提高鉴定人员对检验结果的综合分析能力，正确评价 DNA 分型结果所具有的证据证明力，并严格按照《法庭科学 DNA 检验鉴定文书内容格式》（GA/T 1161—2014）中的要求来写，避免自由杜撰。鉴定意见必须能够客观反映鉴定的由来、鉴定过程以及检验结果的科学性和客观性。

2.3 掌握司法知识，提高法庭应变能力

新刑事诉讼法第 187 条规定：公诉人、当事人或者辩护人、诉讼代理人对鉴定意见有异议，人民法院认为鉴定人有必要出庭，但鉴定人拒不出庭的，鉴定意见不得作为定案的根据。作为鉴定人除了对自身专业有扎实的理论和实践知识外，还要掌握刑事诉讼法的条款和法庭诉讼程序，掌握回答及专业解释技巧，从而保证在出庭时能将鉴定过程、鉴定意见、质量控制等通俗详细的说明，从而使法官、检察官和当事人更认可接受，有利于提高鉴定意见的权威性和公信力，促进司法公正。

保证 DNA 检验结果的准确性是一项全面系统工程，从现场生物物证的提取、保存和送检，DNA 实验室的规范建设和检验过程的操作、DNA 实验结果的质量控制以及最终出具鉴定书中鉴定意见的描述，每一个环节都至关重要，应建立系统的法庭 DNA 鉴定实验室质量标准，维护法庭 DNA 鉴定实验室的鉴定水平，保证鉴定质量，提高 DNA 鉴定证据可信度，确保 DNA 检验结果在案件诉讼中发挥更大的线索及证据作用。

【参考文献】

[1] 陈尚昆. DNA 分析技术在刑事诉讼中的应用探讨［J］. 长白学刊，2009（5）：91-94.

[2] 高树辉，王新淮. 浅谈 DNA 鉴定在法庭科学中的应用研究［J］. 中国人民公安大学学报，2001（6）：4-8.

[3] 袁丽. DNA 鉴定人出庭作证现状、问题对策［J］. 证据科学，2013（5）：574-586.

Y-STR 家系排查技战法应用研究

马志永，张　涛，王安然

（河南省南召县公安局刑警大队，474650）

1 Y-STR 的特点

1.1 以父系遗传为特点

在父系所有男性个体中，都具有相同的 Y-STR 单倍型，在个人识别中具有排除同一性意义。

1.2 Y-STR 基因型的突变率往往低于 2‰，故有较稳定的遗传规律

在家系排查过程中如出现基因突变情况，要认真对突变的基因座进行甄别，如属正常的基因变异，在家系排查时结合调查访问要进一步进行家系溯源。

1.3 Y-STR 检验适用于严重降解的检材

由于实际 DNA 检案中采用的 Y-STR 基因座的片段长度较常染色体 STR 短，对于自身条件较差的检材或常染色体检验未果的检材，通过 Y-STR 检验，会有更高的检出率。特别是微量、疑难、混合的检材和陈年积案的检材，都可以通过 Y-STR 检验获得很好的数据。

1.4 通过 Y-STR 检验可以将男女混合成分分开

特别是女性成分远远大于男性成分时，常染色体往往无法扩增出男性成分，而 Y-STR 单倍型在扩增时不受女性成分的干扰，可以得到男性成分。如强奸案件混合斑的 DNA 检验。

1.5 通过 Y-STR 检验可以将多个男性混合成分分开

在多个男性成分混合情况下，常染色体 STR 由于杂合态而常常出现位点重叠，很难做出同一认定，而 Y-STR 则能相对容易的将多个男性的遗传标记分开，该优势多用于轮奸案件中确定男性犯罪嫌疑人的个数。

2 应用 Y-STR 排查技战法需要具备的客观条件

（1）现场提取到含有男性 DNA 的犯罪物证。

（2）嫌疑人居住的区域主要是以姓氏家族为核心聚居，居住地人群遗传关系相对稳定，而且当地公安机关建有完备的“Y-STR 数据库”。如当地公安机关未建有完备的“Y-STR 数据库”，可以将获得的 Y-STR 数据，通过全国 DNA 数据库进行协查，有可能获得与现场 Y-STR 数据相关的家系数据。这样，不论本地人作案或外地人流窜作案，只要嫌疑人居住地人群遗传关系相对稳定即可通过 Y-STR 排查指导破案。如 2014 年 12 月 5 日，郑州市中原区成功侦破“2011 年 1 月 31 日”中原区碎尸案，就是通过 Y-STR 数据库排查锁定犯罪嫌疑人所在外地家系的典型案例。

3 对 Y-STR 检验获得的家系图谱进行研判

3.1 对 0 容差的家系进行研判

这一点至关重要，办案单位首先对给出 0 容差的家系进行核查，通过对家系核查确定主要家系及姓氏，准确地绘出家系图谱（可以参考家族的族谱）。在确定家系图谱准确无误的情况下，重点核查家系图谱中重点人员如收养、非婚生子、人赘、娶妻带子、随母带走、过继出去的男性，未在家系中的非农业户口男性，长期外地居住、外地打工男性和有犯罪前科的人员逐一标记，做到核查后的家系准确无误不漏建。以便下一步采血时使用。

3.2 标注各个家系所处的地理位置，以便分析外地人流窜作案或本地人员异地作案的情况

在排查过程中要结合犯罪嫌疑人画像及其他侦查手段，综合划定被排查重点采血人员。如主要家系在案发区乡镇，考虑本地作案可能性大。因此，结合犯罪嫌疑人的画像重点排查符合犯罪嫌疑人年龄段的男性、是否有前科的人员；如主要家系在本县其他乡镇，临县乡镇，跨地区乡镇，则考虑本地人员异地作案或外地人流窜作案的情况。重点排查这些家系中有没有在案发区域的打工人员、案发区域工作的人员、随母迁人、人赘、过继的等男性和有前科的重点人员作为排查对象。

3.3 对排查出的重点人员进行血样采集

对绘制出来的家系中每个小的分支（最好有三辈人员家系）尽量选择采集符合重点人员的血样，如无符合重点人员男性也要对分支家系中其他年龄大的男性进行采集，做到每个分支家系男性人员不漏采。

3.4 Y-STR 检测只能锁定家系，不能锁定犯罪嫌疑人，只有通过家系排查最终以常染色体比中犯罪嫌疑人

因此对分支家系中采集的血样必须做常染色体 DNA 检测和 ABO 基因型检测。注意对每个分支家系采血作出的常染色体 DNA 数据与现场提取 DNA 数据的位点一一进行比对，找亲缘关系最近的分支家系。再对亲缘关系最近的分支家系研判，如果分支家系中男性人数较少，直接对每个男性进行采血做常染色体 DNA 检验直接与现场 DNA 进行比对，最终比中犯罪嫌疑人；如果分支家系男性人数较多，我们依据检测出的 ABO 血型，对分支家系中所有男性做 ABO 血型检测，进一步筛查缩小侦查范围，最后对筛查出的少数男性进行采血做常染色体 DNA 检验与现场 DNA 直接比对，最终比中犯罪嫌疑人。

3.5 对 1、2 容差家系进行研判

对 1、2 容差家系出现变异的基因座进行分析，如属于正常的基因突变情况，则考虑进行家系溯源。在进行家系溯源时，还要核查变异家系图谱，对过继、收养、随母带来或私生子等重点人员一一列出，结合走访调查，找出溯源家系。然后在溯源出的家系中找出与现场 Y-STR 分型一致家系，按照上述家系排查的方法对溯源出的家系进行排查。

【参考文献】

[1] 郭景元，李伯龄. 法医物证学 [M]. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：418.

[2] 张科，高青华. Y-STR 的特点及在案件侦破实践中家系排查模式的建立 [C]. DNA 数据库建设应用成果与展望 Ⅱ：第二届全国公安机关 DNA 数据库建设应用研讨会论文选 .2/葛白川主编. -北京：中国人民大学出版社，2011.10：45-48.

[3] 朱传红，史绍兴，王海生，等. Y-STR 家系排查法的应用原则及注意事项 [J]. 中国法医学杂志，2007，22（6）：431-432.

三种方法提取金属类作案工具上 DNA 结果比较

朱宗伟，任记伟，董 星

（河南省鹿邑县公安局刑科所，477200）

1 案例

2015 年 9 月 12 日中午 12 时许，河南省鹿邑县某村村北头一自行车修理铺被盗，现场视频显示两名犯罪嫌疑人骑一辆摩托车，一人在路边放风，一人携工具将房门撬开进入房间行窃，作案时间不超过两分钟，犯罪嫌疑人仓皇逃离现场时将撬门用的钢制钻头（见图 1）遗留到现场。

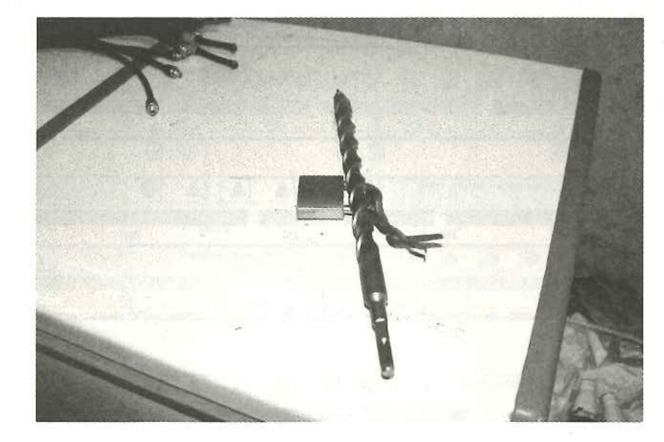


图 1 遗留在现场的钢钻头

2 检验

2.1 DNA 提取

本案检材钢制钻头表面坚硬属非渗透客体，且为不规则螺纹形状，该钻头还曾掉落在地面上，部

分表面粘有油污和尘土，案发后受害人还曾握持过该钻头，这给检验工作带来很大困难。经过对该检材的反复观察，考虑到螺纹内侧受污染可能性较小，且由于该钻头被犯罪嫌疑人随身携带，螺纹内侧很有可能沾染上犯罪嫌疑人的脱落细胞，技术人员决定利用脱落细胞粘取器（博坤公司生产，小号）粘取法、干湿棉签（博坤公司生产）两步擦拭法、植绒拭子（美国 AB 公司生产）擦拭法等多种方法同时对钻头螺纹内侧进行提取，其中棉签提取时剪取少量棉签头用镊子夹住对螺纹缝内侧进行擦拭，提取物均放入 0.6mL 离心管中，加入 130μL 消化液、10μL 蛋白酶 K，漩涡振荡 20s 后 56℃孵育 2h，孵育后漩涡震荡 20s 混匀，然后 12000rpm 离心三分钟，取上清液用“LC-超微量磁珠法 DNA 提取试剂盒”在 KingFisher 磁珠法纯化仪进行纯化提取，洗脱孔中加入 20μL 高纯水。

2.2 PCR 扩增

用 AB-9700 型金座扩增仪和 Identifiler Plus 试剂盒进行扩增。每个检材扩增两份，扩增体系总体积为 10μL，模板量 4μL，操作按照试剂盒和仪器说明书进行。

2.3 扩增产物检测

扩增产物在 AB-3500 型基因分析仪上按标准程序进行电泳分离和激光检测分析。

3 结果

植绒拭子擦拭法和脱落细胞粘取器粘取法所检测结果部分位点为混合分型（见图 2~图 3），并且部分位点缺失，总体峰值较低，所得结果均不满意，干湿棉签两步擦取提取物经过检验取得了较为满意的结果（见图 4），在该钻头上成功检验出一名男性的 DNA 分型，随即将该基因型录入 DNA 数据库，经入库快速比对比中前科人员尚成良，并且串并了河南省鹿邑县、郸城县发生的五起侵财案件，2016 年 4 月 12 日尚成良被抓获归案，并对上述案件供认不讳。

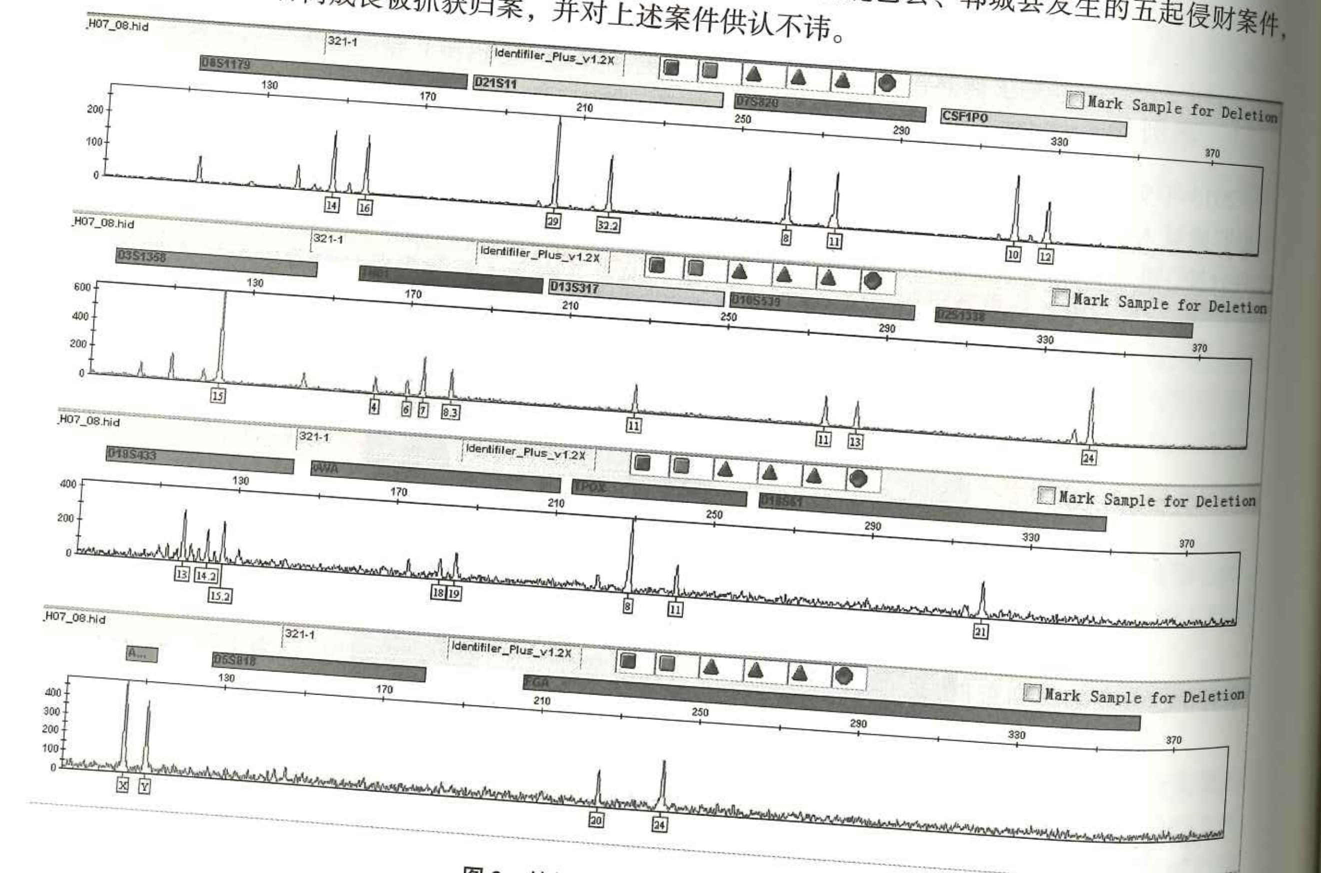


图 2　植绒拭子擦取法检出的图谱

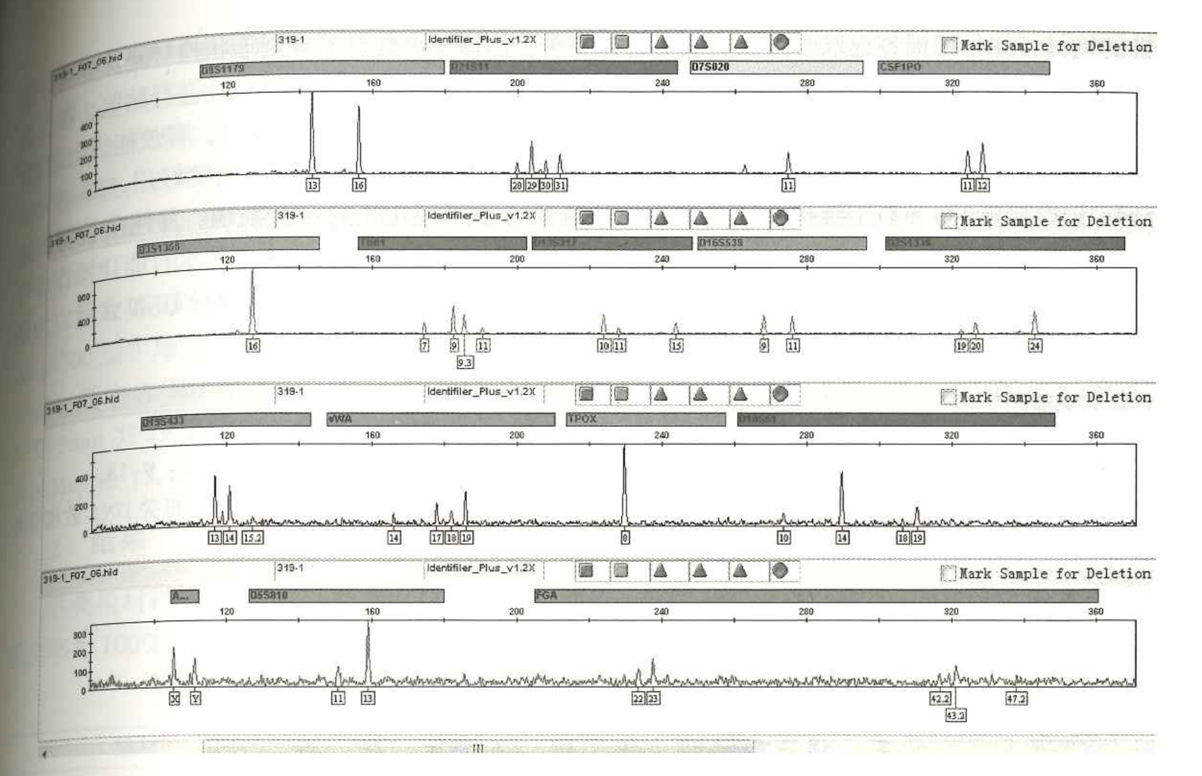


图 3　脱落细胞粘取器粘取法检出的图谱

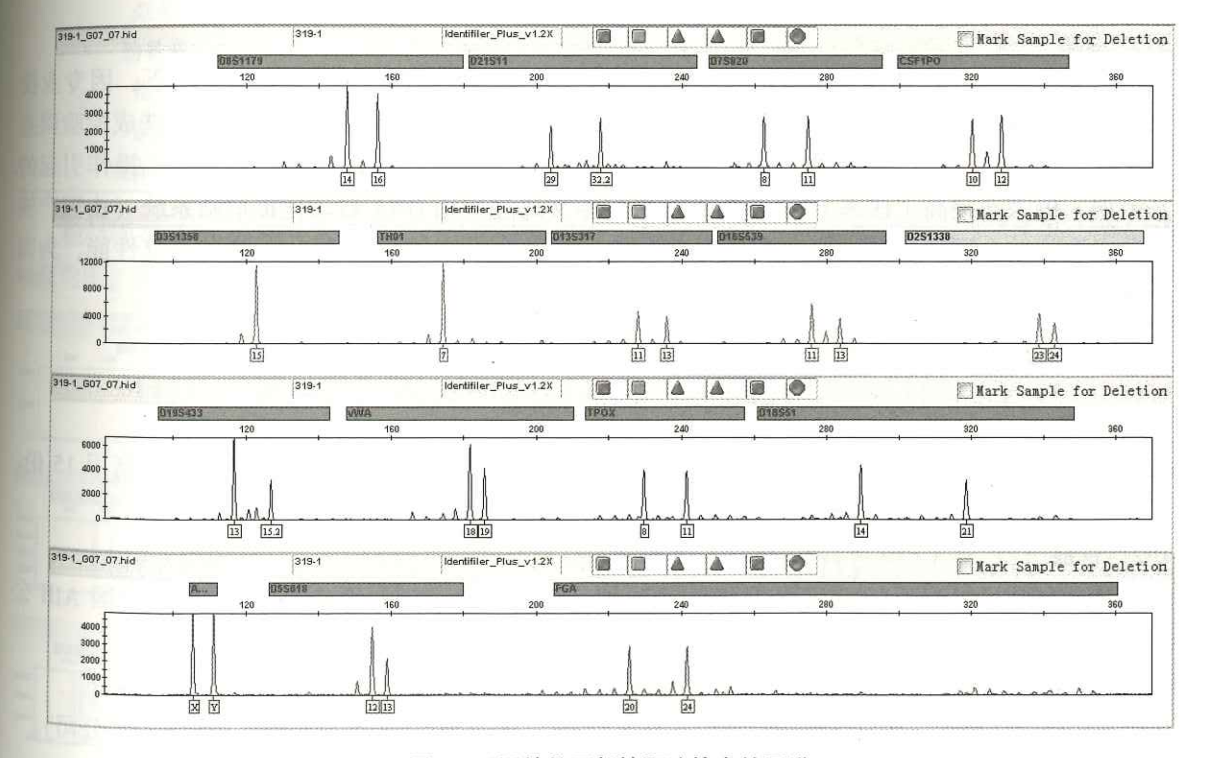


图 4　干湿棉签两部擦取法检出的图谱

4 讨论

随着 DNA 检验技术的不断发展，接触性 DNA 检验技术已成为侦查破案的一把利器。本案中钢制钻头属非渗透客体，脱落细胞会附着于客体表面，干湿棉签两步擦拭法比较适用于此种质地较硬、非

渗透性的检材，并且用棉签提取时可以剪取少量棉签头，用镊子夹住对不规则形状检材缝隙处进行提取，灵活程度较高。脱落细胞粘取器由于接触面相比较大，不能单独对螺纹缝隙处进行粘取，往往会粘到螺纹表面受污染的区域，不利于获得纯净的 DNA 分型。植绒拭子吸附力较强，释放能力也较好，但其拭子头部不能剪取后使用，灵活性不高，往往在一些特殊检材中不及传统棉签好用。KingFisher 磁珠法纯化仪体积小巧、易于维护，其自动化设计避免了手工纯化提取步骤繁琐、易污染检材的缺点，“LC-超微量磁珠法 DNA 提取试剂盒”洗脱环节设计为人工加注洗脱液或高纯水，能让操作者判断检材 DNA 含量大小选择将洗脱体积控制在 20μL 至 80μL，便于灵活掌握检材模板 DNA 含量，为接触性 DNA 检测提供了有力的技术支持。

【参考文献】

［1］张广峰，陈松，涂政，等．接触 DNA 检验成功率的影响因素探讨［J］．刑事技术，2013，(3)：9-13.
［2］牛一平．应用 KingFisher DUO 磁珠纯化仪提取疑难检材 28 例［A］．葛百川．第四届全国公安机关 DNA 数据库建设应用研讨会论文选［C］．北京：群众出版社，2015：270-272.

DNA 自动化提取新系统的性能研究

王　祥，彭皓明，王　锟，王海生，张　毅
（湖北省公安司法鉴定中心，430073）

DNA 检验分析技术在法医实验室的应用越来越广泛，在案件数量逐年递增的情况下，因专业技术人员配备有限，超负荷的工作量及微量疑难生物检材数量的剧增，势必在一定程度会造成检验误差及污染，而影响 DNA 鉴定质量。DNA 的自动化提取可以保证实验结果的稳定，避免人工操作引起的差异及错误，极大地提高了法医 DNA 分析的效率。本文通过应用 DNA 自动化提取新系统（由国产核酸自动化提取仪结合国产核酸提取试剂盒组合而成）提取法医案件检材 DNA，验证系统性能，为国产仪器和试剂盒在实际案件中的应用提供参考资料。

1　材料与方法

1.1　材料

本实验室日常案件收集的样本 190 份，其中血斑 110 份，烟蒂 25 份，肋软骨 20 份，指甲 15 份，肌肉 15 份，脱落细胞类检材 5 份（衣服衣领袖口）。

1.2　仪器

国产核酸自动化提取仪（武汉瑞博祥生物科技有限公司）；9700 型 PCR 扩增仪（美国 ABI 公司）；ABI3100 遗传分析仪（美国 ABI 公司）。

1.3　主要试剂

国产核酸提取试剂盒（武汉瑞博祥生物科技有限公司）；Identifiler © Plus 试剂盒（美国 ABI 公司）。

1.4　方法

1.4.1　样本预处理

血斑样本：直接剪取 3mm×3mm 大小样本；烟蒂样本：剪取 5mm×5mm 大小烟蒂末端；肋软骨样本：切取 3mm×3mm×3mm 大小软骨，将其切碎；指甲样本：将干净指甲根部切成小片，取用 $3mm^3$ 大小；肌肉样本：直接剪取 $1mm^3$ 大小样本；脱落细胞样本：直接剪取衣服衣领袖口 3mm×3mm 大小样本。

1.4.2　DNA 的提取

将上述预处理样本放入 1.5ml 离心管中裂解，裂解过程按照国产核酸提取试剂盒说明书进行。裂解完成后将上清转移至 96 孔深孔板中，提取纯化系统由国产核酸提取试剂盒提供，主要包括磁珠悬浮液、结合缓冲液、洗涤缓冲液、洗脱缓冲液，提取纯化过程在小型国产核酸自动化提取仪上完成，操作按照仪器说明书进行，程序主要包括磁珠与样本 DNA 的结合、磁珠富集、洗涤、DNA 洗脱回收等步骤。

1.4.3　STR 扩增与分型

以提取得到的样本 DNA 为模板进行 PCR 扩增，采用 ABI 公司 Identifiler © Plus 试剂盒在 GeneAmp9700 型扩增仪（ABI 公司）上 10μLPCR 反应体系进行扩增。最佳参数设置为：总反应体系 10μL，其中含 Mix 4.0μL，Primer2.0μL，模板 DNA 1.0μL；循环条件：95℃ 11min 后，94℃ 20s、59℃ 3min 共 29 个循环，最后 60℃ 10min，4℃保温。扩增产物在 ABI3100 型遗传分析仪上进行检测，GeneMapper v3.2 软件进行 STR 分型。

2　结果

各类检材样本 DNA 提取检测成功率如下表所示：全部 190 份检材样本 DNA 均检测到 STR 分型，成功率为 100%。

各类检材样本 DNA 提取进行 STR 检验的成功率表

检材	总数	检出数	成功率
血斑	110	110	100%
烟蒂	25	25	100%
肋软骨	20	20	100%
指甲	15	15	100%
肌肉	15	15	100%
脱落细胞	5	5	100%

检材样本 DNA 经 STR 复合扩增后分型峰高清晰，波动比较小，同一基因座杂合子的两个等位基因间峰高均衡，基因分型明确，位点完整，无等位基因丢失。部分检材样本 STR 分型图谱如图 1~图 4 所示：

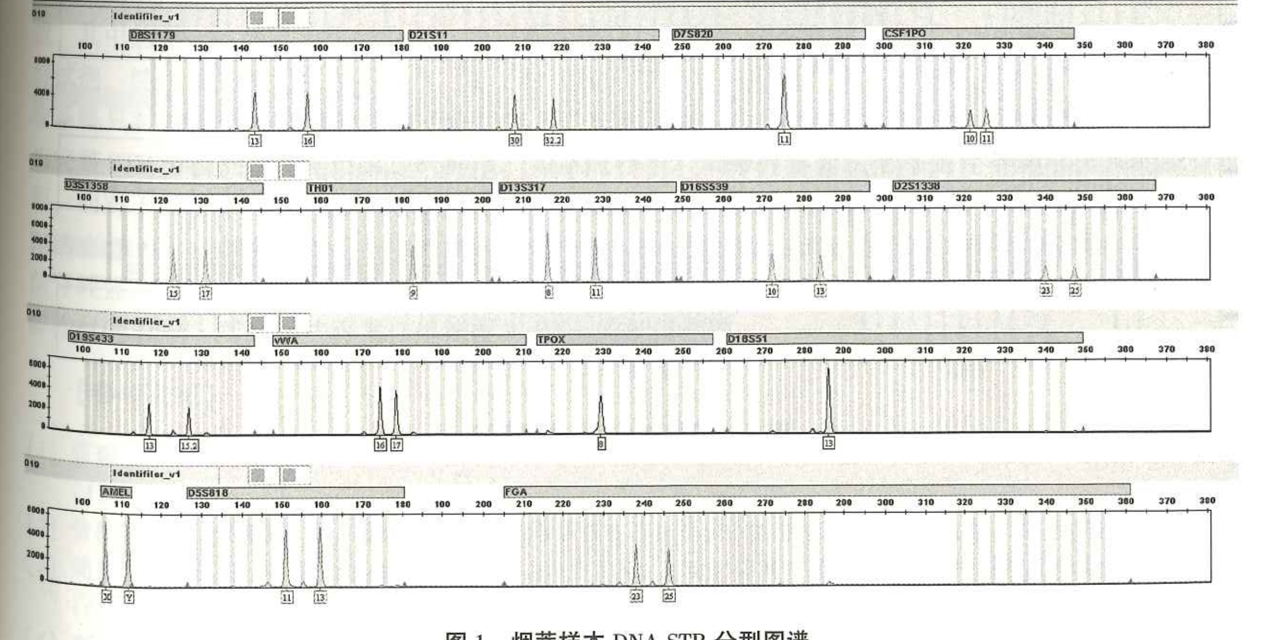


图 1　烟蒂样本 DNA STR 分型图谱

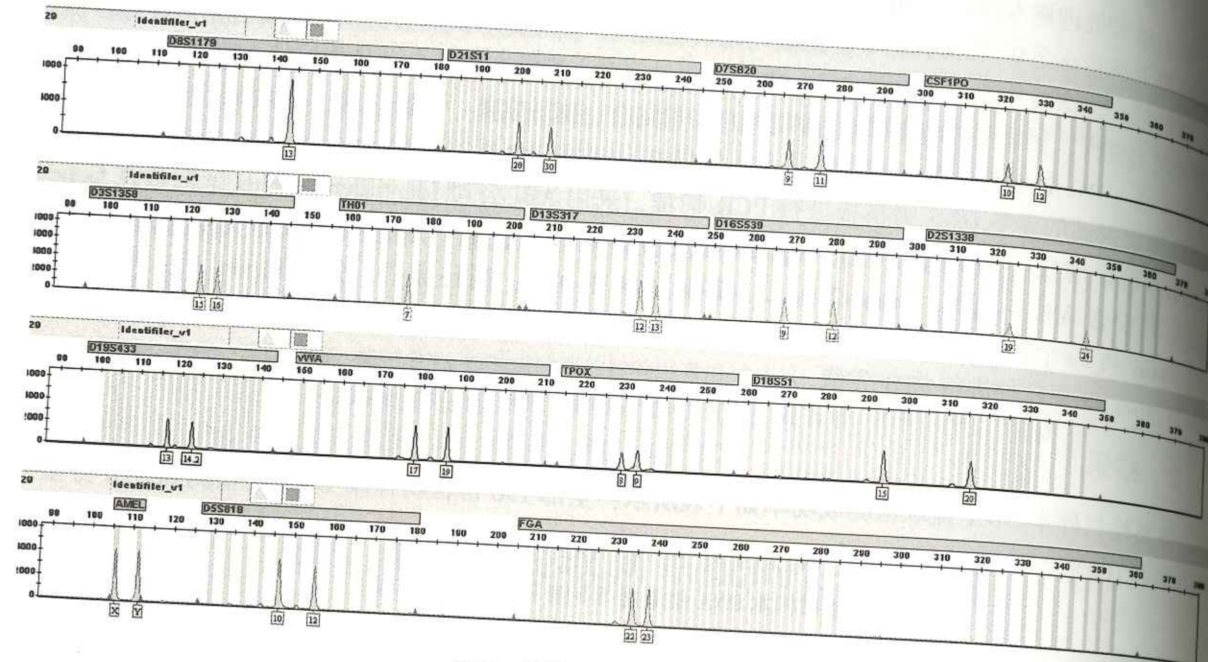


图 2 肋软骨 DNA STR 分型图谱

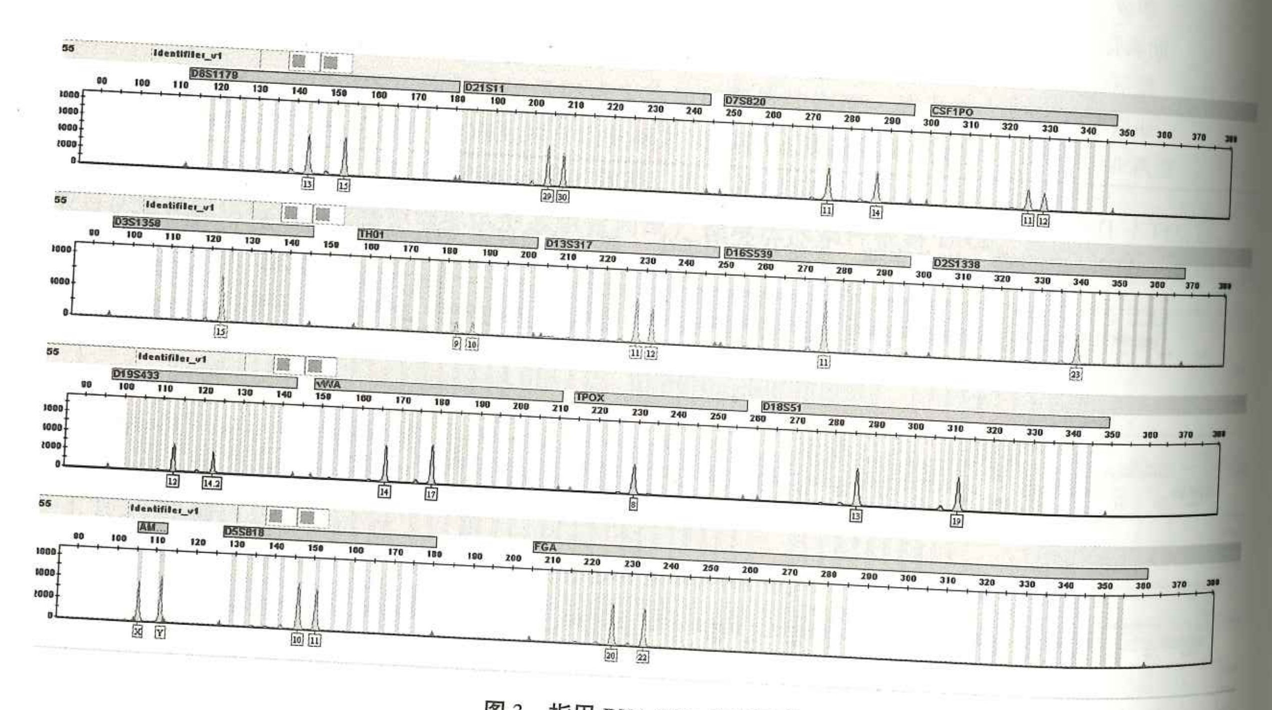


图 3 指甲 DNA STR 分型图谱

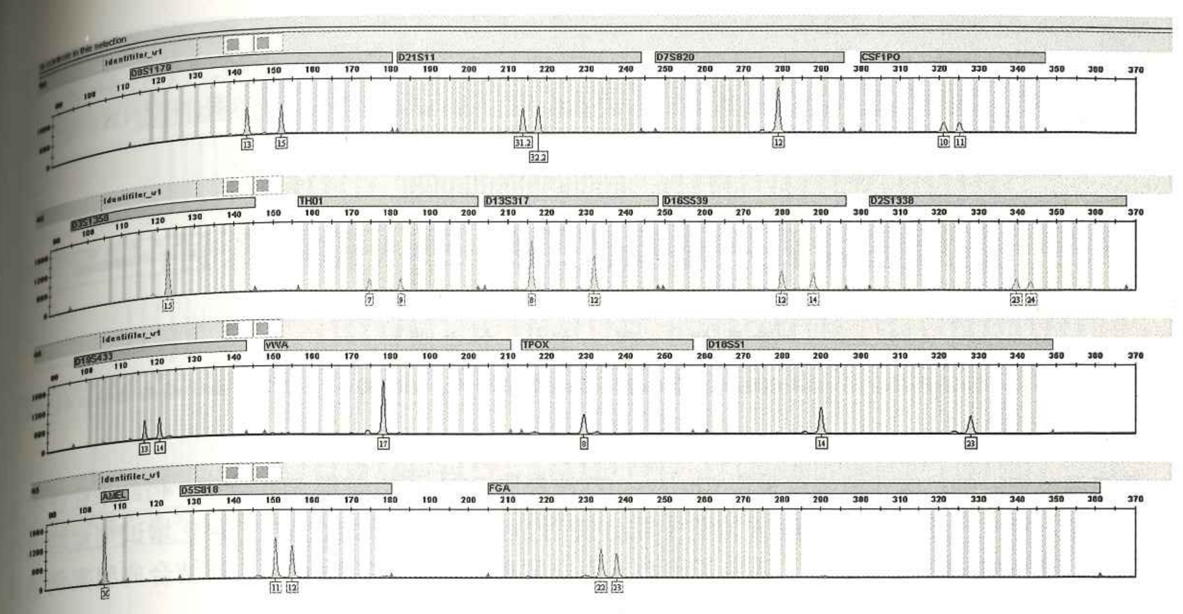


图 4 脱落细胞 DNA STR 分型图谱

3 讨论

自动化工作站是运用生化技术对生物性检材进行批量处理的全自动化工作平台，它的应用极大地提高了法医 DNA 多态性分析的效率。目前，磁珠 DNA 自动提取系统是 DNA 分型检验领域应用较广泛的方法之一。它的出现为 DNA 提取提供了更为有效的提取平台，它使 DNA 的提取过程更加的简易，操作更加便捷，避免了人为因素为实验带来的误差和污染，在保证提取质量的同时缩短了实验的整体时间，同时，使提取更加的精确和均一。我国的磁珠 DNA 自动提取系统仍然主要依靠国外的技术支持，如大型全自动化工作平台系统、小型提取工作站系统在相关领域的应用，而国产的自动化工作站和试剂盒的相关应用和报道较少。因此，研制出具有自主知识产权的完整高效的磁珠 DNA 自动提取系统，打破国外此类产品在国内的垄断地位，是一项值得深入探索和攻关的课题。

本文所用的 DNA 自动化提取新系统，由国产核酸自动化提取仪结合国产核酸提取试剂盒组合而成，其中的国产核酸自动化提取仪自动化程度较高，配套的试剂盒针对法医 DNA 提取要求预先配置好试剂，纯化及洗脱无须人工操作。由于时间和样本来源的限制，本实验室应用此套 DNA 自动化提取系统只对 190 份样本 DNA 进行了提取，其中大部分样本 DNA 一次提取即得到完整的 STR 分型，未出完整 STR 分型的样本进行第二次提取，如血斑样本、烟蒂样本和脱落细胞样本剪取更大的载体面积，而对于肋软骨样本、指甲样本和肌肉样本则提高样本量，同时延长样本的孵化时间，以提升样本 DNA 的浓度，经如此处理后成功检测到这些样本 DNA 的 STR 分型，检测成功率为 100%，荧光检测信号较强。上述结果初步表明此套 DNA 自动化提取系统能够有效提取案件中常见检材以及微量、降解检材的 DNA，可用于法医案件生物样本 DNA 的批量提取。

【参考文献】

[1] 张琼予，丁梅，王保捷，等. DNA 提取自动化工作站在法医学领域的应用［J］. 中国法医学杂志，2010，25（1）：40-42.

[2] 管桦，李英，荣海博，等. 磁珠 DNA 自动提取系统在法医检验中的应用［J］. 刑事技术，2013（5）：29-32.

[3] 周如华，石云杰，周钱颖. 改良 EVO150-8 方法在 DNA 自动化检案中的应用［J］. 中国法医学杂志，2011，26（6）：468-469.

[4] 高林林，徐念来，谢炜，等. 利用 AutoMate Express™ 自动化法医 DNA 提取系统提取骨骼及牙齿 DNA［J］. 法医

学杂志，2013，29（2）：127-129.
[5] 焦志，赵兴春，叶健. MP-120 工作站批量提取法医样本 DNA [J]. 生命科学仪器，2009，7（3）：44-45.
[6] 孙敬，赵兴春，姜伯玮，等. 法医 DNA 提取纯化试剂盒在 MP-120 自动化工作站上提取案件样本 DNA 的性能研究 [J]. 生命科学仪器，2010，8（2）：34-36.

高温焚烧后尸体残留组织 DNA 检验探讨

侯展超[1]，张 毅[2]，余文举[3]
（1. 湖北省宜昌市公安局刑侦支队，443009；2. 湖北省公安厅刑侦总队，430000；3. 湖北省五峰县公安局，443400）

经高温焚烧后的尸体残留组织采用 Chelex-100 法提取 DNA 可以获得 STR 分型，但结果往往不太理想，笔者近年来在此类检材的 DNA 检验中联合使用 M48 纯化试剂盒、ID-Plus 扩增试剂盒均成功检出完整、清晰的 STR 分型结果，认定了尸源，为办案单位解决了实际问题，现结合典型案例谈谈此类生物检材的 DNA 提取、检验，与各位同人共享。

1 案件资料

案例 1：2013 年 9 月 6 日，长阳县尚某家人报案称尚某失踪多日，怀疑受到侵害。后经工作，在疑似作案车辆、现场提取到的多份生物物证上分别检出了受害人，犯罪嫌疑人的 DNA 分型。9 月 11 日，犯罪嫌疑人被抓获归案，交代已将尚某杀害焚尸，后技术员在长江岸边焚尸现场提取到一小块焚烧过的腐败组织，并从中检出了受害人的 DNA 分型，为尚某被绑架、抢劫杀害案的成功告破提供了有力的证据。

案例 2：2014 年 9 月 29 日，在宜都市枝城镇一河堤上，一辆车牌号为"鄂 E4E408"轿车被完全烧毁，仅剩铁架，在后备箱内发现一具烧焦的尸体。为确定尸源，法医提取了尸体的脑组织、脊髓、肝脏、下肢肌肉等生物检材。后经 DNA 检验，所有检材均检出完整、清晰 STR 分型图谱。

案例 3：2014 年 10 月 4 日，车牌号为"鄂 EB3542"的重型货车在 318 国道侧翻起火，车上两人死亡，尸体高度炭化。为确定尸源，技术员在现场提取到两块长度约 2 厘米的高度炭化疑似肋软骨。后经 DNA 检验，STR 分型与疑似受害人父母均具有亲缘关系，最终利用 DNA 技术确定了两具尸体身份。

2 DNA 提取、检验

2.1 检验过程

使用 M48 纯化试剂盒提取模板 DNA，ID-Plus 试剂盒（AB，USA）10μL 体系，模板 1μL，在 9700 型 PCR 扩增仪上进行扩增，扩增产物在 3500XL 型遗传分析仪上进行 STR 分型检测。

2.2 检验结果

以上案例中经高温焚烧后的尸体残留组织，经检验均得到完整、清晰的 STR 分型结果。

3 讨论

（1）一要重视尸体残留组织中心部位检材 DNA 提取，中心部位受高温影响、腐败程度相对较小；二要重视对实质性脏器的提取、检验，如肝脏、脾脏等实质性脏器中心部位可能未腐败的细胞多，DNA 含量高。

（2）案例 2 的两块疑似肋软骨经高温焚烧后硬度增高、切片时非常费力，肉眼观察其纵切面呈深咖啡色，分析原因可能为高温脱水所致。检材提取心得体会：使用手术刀片切取适量检材，切片时尽量降低切片厚度（切成透明状）、延长浸泡时间，切片尽量剪碎后备检。

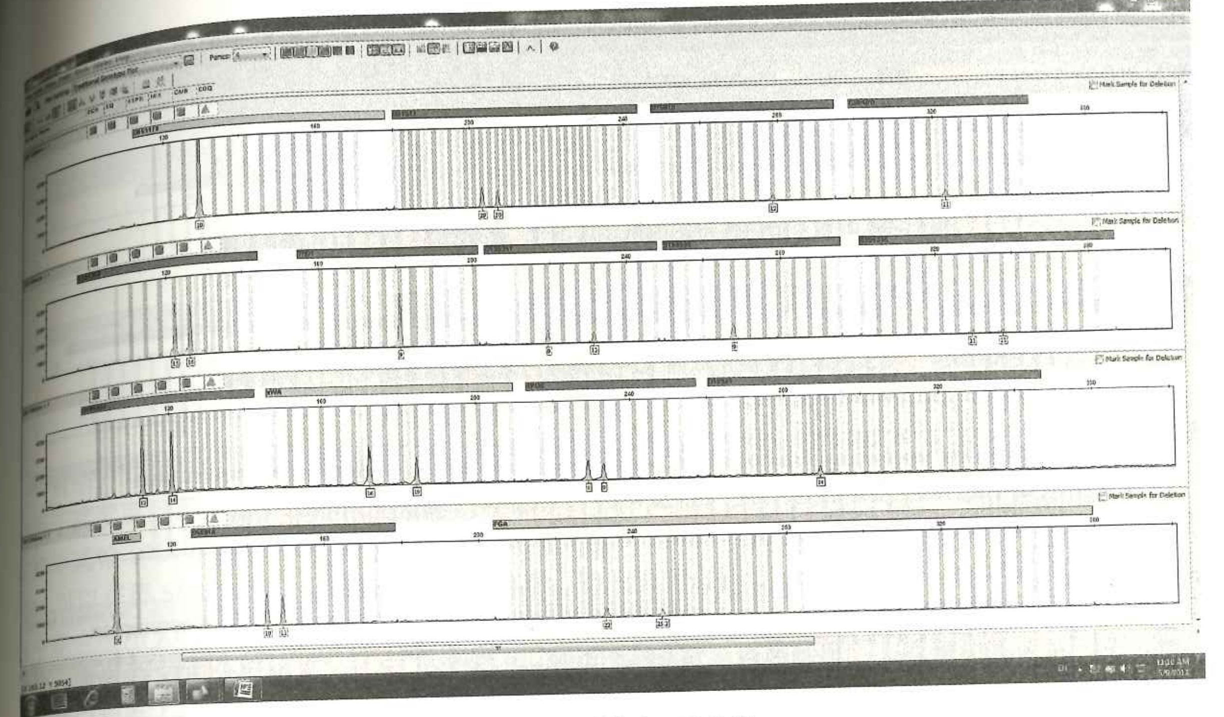


图 1 案例 1 受害人 STR 分型

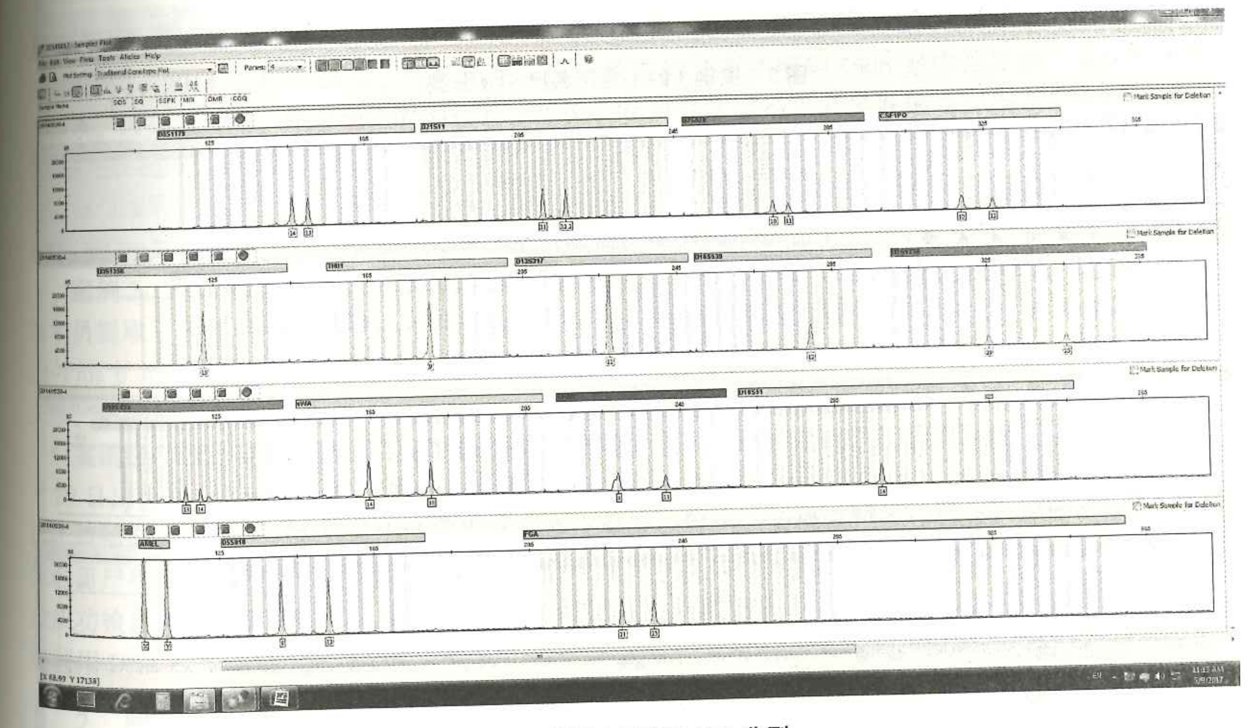


图 2 案例 2 无名尸 STR 分型

（3）磁珠本身具有浓缩、纯化、半定量的作用，所以本实验室在提取此类检材时，适当增加了检材提取量，提高了检出成功率，所得到的 STR 分型图谱峰值均控制在理想范围内。

（4）经高温焚烧后的尸体残留组织，因腐败、DNA 降解及抑制物干扰等因素，此类检材 STR 检验难度相对较大，采用 M48 纯化试剂盒，降低、消除了抑制物干扰，能获得高纯度的 DNA 模板，并可通过加入去离子水量来调节模板 DNA 浓度。

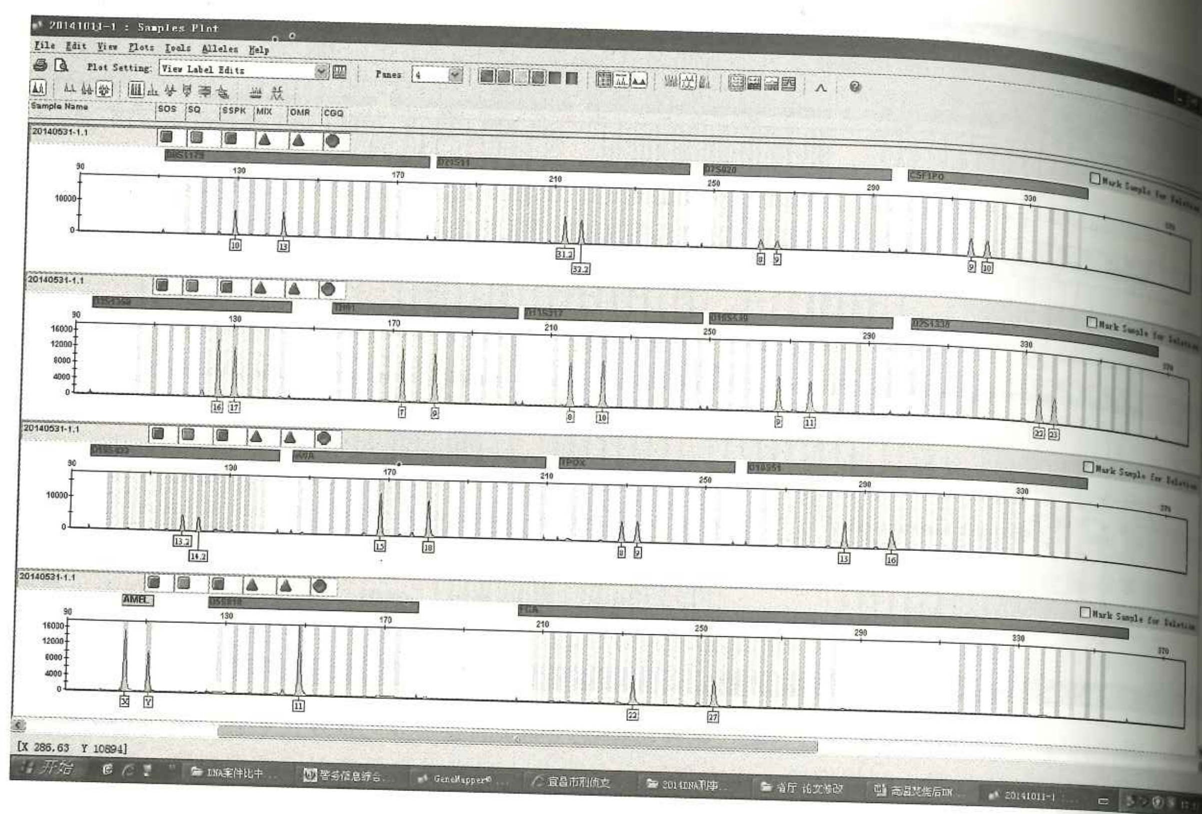


图3 案例3的1号无名尸STR分型

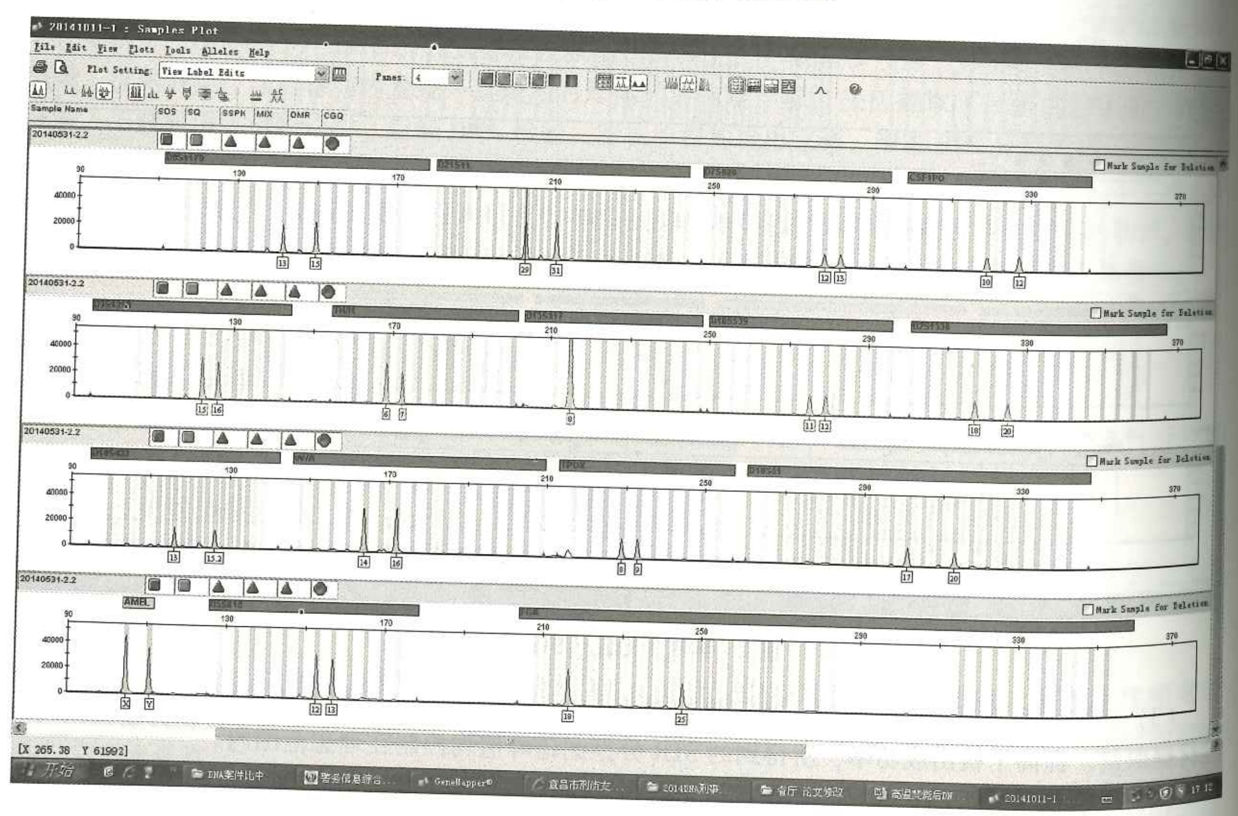


图4 案例3的2号无名尸STR分型

(5) 扩增时使用灵敏度高、抗干扰能力强的ID-Plus试剂盒，该试剂盒能有效对抗腐殖质对于扩增反应的抑制作用，提高了此类案件生物检材的检出率。

利用超微量磁珠法快速提取高度腐败尸体指甲DNA在尸源鉴定中的运用

马卫东[1]，张　毅[2]

(1. 湖北省荆门市公安局刑侦支队，448000；2. 湖北省公安厅刑侦总队，430070)

目前，高度腐败尸体尸源DNA鉴定可以提取尸体肋软骨、指甲、牙齿、长骨等进行DNA检验，但由于高度腐败尸体指甲提取简单方便，好保存，容易送检，大多基层法医喜欢选择拔取高度腐败尸体指甲送检DNA检验。一般DNA实验室通常采用聚苯乙烯二乙烯基苯树脂法提取高度腐败尸体指甲DNA可以获得STR分型，但结果往往不太理想，检验时间也较长。笔者近年来在此类检材的DNA检验中联合使用KingFisher磁珠提取纯化仪、超微量磁珠纯化试剂盒、ID-Plus扩增试剂盒均成功检出完整、清晰的STR分型结果，认定了尸源，一般在7~8h可出检验结果。为命案尸源鉴定、无名尸体尸源鉴定提供了线索和确凿证据，现结合典型案例谈谈此类生物检材的DNA提取、检验体会。

1 案件资料

案例1：2013年6月22日，荆门市东宝区海慧路澳龙商务酒店8506室床边发现一具无名女尸，系他杀。因高温天气，死者死亡时间较长，该无名女尸高度腐败。经提取该女尸指甲联合使用KingFisher磁珠提取纯化仪、超微量磁珠纯化试剂盒、ID-Plus扩增试剂盒成功检出完整、清晰的被害人STR分型结果。经与失踪人刘某某（女，1994年11月13日）的父亲、母亲进行亲缘鉴定，迅速确认了尸源为刘某某，为刘某某被杀案的成功告破提供了有力的证据。

案例2：2014年2月19日，京山县新市镇惠亭水库发现一具高度腐败无名男尸。为确定尸源，技术员提取了该无名男尸指甲。后经联合使用KingFisher磁珠提取纯化仪、超微量磁珠纯化试剂盒、ID-Plus扩增试剂盒成功检出完整、清晰的STR分型结果。其STR分型与疑似失踪人父母均具有亲缘关系，最终利用DNA技术确定了此无名男尸身份。

案例3：2015年3月16日15时50分接110指令：荆门市妇幼保健院放射科陈某（男，1981年1月29日出生），于3月14日下午进入黑山后与家人失去联系，怀疑被害。2015年4月11日，在东宝区子陵镇金泉村龙潭沟附近的山坳中发现一高度腐败的男尸。为确定尸源，技术员提取了该高度腐败无名男尸指甲。经联合使用KingFisher磁珠提取纯化仪、超微量磁珠纯化试剂盒、ID-Plus扩增试剂盒成功检出完整、清晰的STR分型结果。其STR分型与疑似失踪人陈某的父母均具有亲缘关系，最终利用DNA技术确定了此无名男尸身份，经尸体检验、现场勘查及调查，排除他杀。

2 DNA提取、检验

2.1 检验过程

使用超微量磁珠纯化试剂盒在KingFisher磁珠提取纯化仪上提取指甲模板DNA，ID-Plus试剂盒（AB，USA）10μL体系，模板2μL，在9700型PCR扩增仪上进行扩增，扩增产物在3130型遗传分析仪上进行STR分型检测。

2.2 检验结果

以上的高度腐败尸体指甲，经检验均得到完整、清晰的STR分型结果。

3 讨论

（1）重视高度腐败尸体 DNA 检材提取部位，指甲受腐败影响相对较小，提取简单方便，有指甲的高度腐败尸体优先采集指甲送检；正确提取、检验，指甲要拔取四枚以上，剪取指甲根部后要尽量剪碎，也可使用手术刀片刮取指甲根部的指甲粉末备检，延长浸泡消化时间，扩增时模板量适当加大。

（2）磁珠本身具有浓缩、纯化、半定量的作用，所以本实验室在提取此类检材时，适当增加了检材量，延长了浸泡消化时间，扩增时模板量适当加大，检出成功率很高，所得到的 STR 分型图谱峰值均能正确分型。

（3）扩增时使用灵敏度高、抗干扰能力强的 ID-Plus 试剂盒，该试剂盒能有效对抗腐殖质对于扩增反应的抑制作用，提高了此类案件生物检材的检出率。

湖南长沙地区土家族 20 个 STR 基因座遗传多态性分析

张金国[1]，李　花[1]，付　永[1]，赵　霖[1]，胡金伟[2]

（1. 湖南省长沙市公安局刑侦支队物证检验所　公安部重点 DNA 检验鉴定实验室，410002；
3. 湖南省长沙市第一医院，410005）

短串联重复序列（STR）分型检验是当前法医 DNA 检验的重要技术之一，广泛应用于法医学个人识别和亲缘关系鉴定。长沙市是湖南省省会，辖 6 区 2 县 1 市，常住人口 750 万，主要为汉族。2010 年人口普查统计数据显示，有土家族、苗族、侗族等 54 个少数民族人群居住于长沙，其中土家族人群超过 3 万人。据出入境部门统计资料，目前在长沙居住的土家族人口已超过 10 万人，是长沙人数最多的少数民族。本文对 580 例长沙地区土家族无关个体血样进行 20 个常染色体 STR 基因座遗传多态性分析，以期为长沙地区人群的群体遗传学分析及法医学应用研究提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 样本及 DNA 提取

580 例长沙土家族人群无关个体血样（男性 373 例，女性 207 例，）均由长沙市第一医院检验科提供（均按照知情自愿的原则采集），采用 Chelex-100 法提取基因组 DNA，4℃保存。

1.2 复合扩增及产物检测

采用 PowerPlex® 21 试剂盒（美国 Promega 公司）进行复合扩增，扩增产物应用 3130xl 型 DNA 测序仪（美国 AB 公司）进行电泳分离与激光扫描分析，GeneMapper® ID-X 软件进行 20 个 STR 基因座的基因型分析。

1.3 统计分析

用 PowerStats v1.2 分析软件计算 20 个 STR 基因座的基因频率，并进行 χ^2 检验和 Hardy-Weinberg 平衡检测；计算各基因座杂合度（H）、个体识别能力（DP）、匹配概率（Pm）、非父排除概率（PE）、多态信息含量（PIC）、典型父权指数（TPI）等法医遗传学参数。

2 结果与讨论

580 例个体样本 20 个 STR 基因座共检出 252 个等位基因、922 种基因型，等位基因数目在 7~24，

基因型数目在 16~130，基因频率在 0.001~0.510，对各基因座观察值和期望值进行 χ^2 检验，均符合 Hardy-Weinberg 平衡（$P>0.05$）。各基因座等位基因频率见表 1，群体遗传学参数见表 2。

表 1　湖南长沙地区土家族 20 个 STR 基因座等位基因频率（n=580）

D3S1358		Penta E		D2S1338		D18S51		D16S539		D6S1043		D7S820		CSF1PO	
A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F	A	F
6	0.002	5	0.039	16	0.017	10	0.004	7	0.003	9	0.001	7	0.003	7	0.007
12	0.003	7	0.003	17	0.073	11	0.003	8	0.004	10	0.043	8	0.127	8	0.003
14	0.037	8	0.003	18	0.116	12	0.047	9	0.268	11	0.122	9	0.066	9	0.044
15	0.336	9	0.021	19	0.187	13	0.155	10	0.128	12	0.119	9.1	0.010	10	0.234
16	0.322	10	0.051	20	0.127	14	0.187	11	0.249	12.2	0.001	9.2	0.001	11	0.247
17	0.222	11	0.163	21	0.025	15	0.199	12	0.230	12.3	0.002	10	0.157	12	0.374
18	0.071	12	0.115	22	0.041	16	0.136	13	0.104	13	0.141	10.2	0.002	13	0.083
19	0.007	13	0.067	23	0.186	17	0.075	14	0.014	14	0.149	10.3	0.001	14	0.006
		14	0.082	24	0.147	18	0.034			15	0.022	11	0.356	15	0.002
D13S317		14.2	0.002	25	0.058	19	0.063	D8S1179		16	0.007	11.3	0.001		
A	F	15	0.087	26	0.016	20	0.034	A	F	17	0.034	12	0.236	FGA	
7	0.002	16	0.074	27	0.004	21	0.028	8	0.003	17.3	0.002	13	0.037	A	F
8	0.322	17	0.070	28	0.002	22	0.017	9	0.002	18	0.157	14	0.004	14	0.002
9	0.132	18	0.066	29	0.001	23	0.009	10	0.146	19	0.145	D5S818		15	0.003
10	0.131	18.3	0.001			24	0.007	11	0.110	20	0.046	A	F	16	0.003
11	0.214	19	0.044			25	0.002	12	0.122	20.3	0.001	7	0.041	17	0.003
12	0.161	19.3	0.002	D21S11		26	0.001	13	0.205	21	0.007	9	0.055	18	0.022
13	0.025	19.4	0.001	A	F			14	0.175	21.2	0.001	10	0.216	19	0.057
14	0.013	20	0.048	27	0.003	TPOX		15	0.146	21.3	0.002	11	0.308	20	0.056
		21	0.031	28	0.056	A	F	16	0.083	30	0.001	12	0.229	20.2	0.001
D1S1656		22	0.017	28.2	0.006	7	0.001	17	0.007			13	0.148	21	0.124
A	F	23	0.004	29	0.245	8	0.510	18	0.002	D19S433		14	0.003	21.2	0.004
11	0.087	24	0.009	30	0.263	9	0.103			A	F	D12S391		22	0.176
12	0.051	24.3	0.001	30.2	0.009	10	0.044	Penta D		11	0.005	A	F	22.2	0.005
13	0.097	25	0.001	30.3	0.003	11	0.311	A	F	12	0.043	15	0.011	23	0.197
14	0.072	vWA		31	0.089	12	0.030	6	0.001	12.2	0.007	16	0.004	23.2	0.016
15	0.280	A	F	31.2	0.073	13	0.001	7	0.003	13	0.278	17	0.059	24	0.166
15.3	0.003	13	0.005	32	0.037	TH01		8	0.051	13.2	0.056	18	0.215	24.2	0.009
16	0.231	14	0.268	32.2	0.162	A	F	9	0.368	14	0.241	19	0.215	25	0.096
16.3	0.007	15	0.028	33	0.004	6	0.091	10	0.141	14.2	0.080	20	0.180	25.2	0.003
17	0.069	16	0.169	33.2	0.041	7	0.272	11	0.130	15	0.080	21	0.125	26	0.034
17.3	0.060	17	0.237	34.2	0.004	8	0.043	12	0.149	15.2	0.148	22	0.093	26.2	0.003
18	0.009	18	0.177	35.2	0.004	9	0.493	13	0.113	16	0.016	23	0.050	27	0.013
18.3	0.029	19	0.098			9.3	0.048	14	0.035	16.2	0.041	24	0.033	28	0.006
19.3	0.003	20	0.017			10	0.049	15	0.008	17	0.002	25	0.013	28.2	0.001
20.3	0.003	21	0.001			11	0.003	16	0.001	17.2	0.003	26	0.003	29	0.001

表 2　湖南长沙地区土家族 20 个 STR 基因座的群体遗传学参数（n=580）

基因座	H	Pm	PIC	DP	PE	TPI	基因座	H	Pm	PIC	DP	PE	TPI
D3S1358	0.734	0.124	0.680	0.876	0.484	1.88	*TH01*	0.655	0.156	0.620	0.844	0.362	1.45
D1S1656	0.841	0.050	0.820	0.950	0.678	3.15	*vWA*	0.795	0.070	0.770	0.930	0.589	2.44
D6S1043	0.840	0.030	0.860	0.970	0.645	3.12	*D21S11*	0.812	0.051	0.800	0.949	0.622	2.66
D13S317	0.781	0.074	0.860	0.926	0.564	2.28	*D7S820*	0.757	0.087	0.740	0.913	0.522	2.06
Penta E	0.888	0.015	0.910	0.985	0.771	4.46	*D5S818*	0.783	0.086	0.750	0.914	0.567	2.30
D16S539	0.772	0.079	0.750	0.921	0.549	2.20	*TPOX*	0.626	0.192	0.570	0.808	0.323	1.34
D18S51	0.869	0.033	0.850	0.967	0.733	3.82	*D8S1179*	0.841	0.042	0.830	0.958	0.678	3.15
D2S1338	0.888	0.035	0.850	0.965	0.771	4.46	*D12S391*	0.883	0.046	0.820	0.954	0.760	4.26
CSF1PO	0.703	0.112	0.690	0.888	0.434	1.69	*D19S433*	0.822	0.052	0.800	0.948	0.641	2.82
Penta D	0.788	0.070	0.760	0.930	0.577	2.36	*FGA*	0.862	0.033	0.860	0.967	0.719	3.63

调查结果显示，20 个 STR 基因座中，PentaE、D2S1338 多态性最高，TPOX 最低。H 值在 0.626（TPOX）~0.888（Penta E、D2S1338），Pm 值在 0.015（Penta E）~0.192（TPOX），PIC 值在 0.570（TPOX）~0.910（Penta E），DP 值在 0.808（TPOX）~0.985（Penta E），PE 值在 0.323（TPOX）~0.771（Penta E），TPI 值在 1.34（TPOX）~4.46（Penta E、D2S1338）。20 个基因座中，除 TH01、TPOX、CSF1PO、D3S1358 4 个基因座外，其余 16 个均为高鉴别能力基因座。20 个基因座累积个体识别能力（CDP）达到 $1-3.917\times10^{-25}$，累积非父排除概率（CPE）达到 0.999 999 998 795。说明该 20 个 STR 基因座在长沙地区土家族群体中有较高的遗传多态性，可用于法医学个人识别及亲缘关系鉴定。获得的群体遗传学数据，可以补充长沙地区常染色体 STR 数据，为后续相关研究和应用提供基础数据。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：383-387.
[2] PowerStats. http://www. promega. com/geneticidtools/［CP］. 1999.
[3] John M. Butler. 法医 DNA 分型：STR 遗传标记的生物学、方法学及遗传学［M］. 侯一平，刘雅诚主译. 北京：科学出版社，2007：356-358.

九例“三带型”图谱的分析与判定

廖长青，胡　蓉，王　权
（湖南省湘潭市公安局刑事侦查支队，411100）

在 DNA 数据库建设中，由于检验样本量大，容易碰到各种异常情形。笔者在 10614 例建库样本中，排除污染、pull-up 峰、stutter 产物峰后，仍有 9 例表现为 3 个基因峰，现总结分析如下。

1　材料与方法

1.1　材料

（1）样本全部来源于 2016 年 8 月至 2017 年 4 月本实验室 DNA 数据库，共计 10614 份，全部为人血 FTA 卡。

（2）主要试剂与仪器 EX20 试剂盒（AGCU 公司）、PowerPlex 21 试剂盒（美国 Promega 公司）、GeneAmp©9700 型扩增仪、ABI-3130xl 型基因分析仪。

1.2　方法

使用直径 1.2mm 的打孔器，打一孔后在 9700 型扩增仪上按 EX20 试剂盒说明书进行免提取扩增，扩增产物应用 3130xl 型遗传分析仪进行检测，使用 GeneMapper ID-X 软件进行分析。所有判定存疑的样本使用 PowerPlex 21 试剂盒按上述方法复核。

2　结果

在 10614 例建库样本中，排除污染、pull-up 峰、stutter 产物峰后，仍有 9 例表现为三带型图谱。经 PowerPlex 21 试剂盒复核后，确定为邻近基因座等位基因入侵的样本 5 例，仍表现为三带型的样本 4 例（见表 1）。

表 1　三等位基因峰样本分型及复核表

样本编号	基因座	基因分型	左侧位点及分型	右侧位点及分型	复核情况
1	D7S820	11/12/13	D13S317　11/11	D16S539　11/12	11/12/13 三带型，峰高约 2：1：1
2	D6S1043	8*/12/17.3	D18S51　16/16	无	D18S51 长片段等位基因侵入
3	D13S317	OL*/11/12	D3S1358　16/16	D7S820　11/11	D3S1358 长片段等位基因侵入
4	D13S317	8/11/12	D3S1358　15/17	D7S820　8/8	8/11/12 三带型，峰高约 1：1：1
5	D6S1043	OL*/15/19	D18S51　15/15	无	D18S51 长片段等位基因侵入
6	Penta_ E	4*/5/8	D16S539 11/11	无	D16S539 长片段等位基因侵入
7	TH01	7/9/13*	TPOX　8/8	D2S1338　20/20	D2S1338 短片段等位基因侵入
8	D6S1043	15/17/20	D18S51　14/16	无	15/17/20 三带型，峰高约 1：1：1
9	Penta_ D	8/9/10	CSF1PO　9/11	无	15/17/20 三带型，峰高约 1：2：1

注：标有“*”的等位基因与其他两个等位基因存在形态、位置差异，确定为邻近基因座入侵的等位基因。

3　讨论

目前，国内 DNA 数据库建设主要采用短串联重复序列（short tandem repeat，STR）技术，正常情况下，单个 STR 基因座经 PCR 扩增和毛细管电泳后，纯合子个体图谱表现为只有 1 个基因峰，杂合子个体图谱表现为 2 个基因峰，不会出现 3 个基因峰的现象。三基因峰异常是一种较为罕见的变异，应当谨慎判定，否则有可能导致入库数据一个或两个位点分型异常，影响数据库比效能的正常发挥。笔者认为，要确定是否三带型应排除检测技术及邻近基因座等位基因入侵带来的干扰峰。

首先，应当排除样本污染和 pull-up 峰、stutter 产物峰等检测技术带来的干扰峰。目前大批量的数据库样本检测，为确保检验效率，通常采用打孔的方式取样，在打孔过程中由于打孔器及样本载体材质的问题，有时会有上一个样本的残留带入下一个样本，导致出现 3 个以上基因峰的异常情形。这种轻微污染通常涉及多个基因座，很少出现在单个基因座上，比较容易判定。而由于检材 DNA 拷贝数过高、光谱校正欠佳导致的 3 个以上基因峰，通常也会涉及多个基因座，同时在分析软件中有 SOS（Sample off-Scale）等提示，同样比较好判定。比较难判定的是部分试剂盒 stutter 产物峰过高导致的三等位基因峰，由于局限在单个基因座，需要谨慎判定，必要时可换试剂盒复核。

其次，应当排除邻近基因座等位基因侵入导致的三等位基因峰。目前的毛细管 STR 技术，只检测各扩增片段的相对长度，并不能真实反应被检测片段的位置及序列，因此不能完全避免邻近位点等位基因侵入导致的误判。如表 1 中的 2 号样本，其 D6S1043 位点出现“8/12/17.3”三个等位基因峰。通过

仔细观察发现其最小的等位基因“8”虽然落在 Bin 里，但明显向右偏移，同时其峰高与“12”“17.3”两个等位基因相比显著较低。其左侧相邻的 D18S51 位点为“16/16”纯合子，如果将 D6S1043 的等位基因“8”当作 D18S51 的 OL 计算，发现其与 Ladder 里 D18S51 的等位基因“26”相差 15.98bp，约为 4 个循环次数，因此不能排除是否为 D18S51 较大的等位基因入侵。使用基因座排列不同的 PowerPlex 21 试剂盒复核后，确认 D6S1043 为“12/17.3”杂合，不存在三带型异常。此类三等位基因峰异常相对难以判定，而一旦判定错误，将导致连续两个基因座的分型错误——其中一个基因座会错将杂合子判定为纯合子，另一个基因座会错将杂合子判定为三等位基因，因此应特别引起注意。

经多个试剂盒复核，并排除样本污染，pull-up 峰、stutter 产物峰等检测技术带来的干扰，排除邻近基因座过大或过小的等位基因侵入后，仍表现为三个等位基因峰的，可认定为三带型（three-banded pattern）。目前三带型已有多人报道，其中包括 Type1 和 Type2 两种类型，Type1 表现为其中两个峰的峰高之和约等于另一个峰，Type2 表现为三个峰的峰高接近。本文研究中，两种类型均有表现，出现频率之比为 1∶1。

在目前的 DNA 数据库里，由于比对模式相对比较固定，应当优先确保比对的灵敏性。虽然稀有等位基因能够极大地提升比对的特异性，但是相应的也可能降低其灵敏性，特别是还存在上述邻近等位基因入侵的情形，一旦未准确判定而直接入库，可能导致连续两个基因座的分型错误，这将大大降低比对的准确性。因此，在大规模数据库建设过程中，笔者建议对于此类三等位基因的异常图谱，即便是可靠的三等位基因分型，也应当予以删除以优先确保准确比中。

【参考文献】

[1] 陈玲，刘超，邱平明，等. 常染色体 STR 基因座三带型的观察与分析［J］. 中国法医学杂志，2014，29（4）：316-318.

[2] 陈芳，陈俭，付颖，等. STR 基因座中检出三带型等位基因 7 例［J］. 法医学杂志，2014，30（3）：215-216.

浅论 DNA 证据的双联性

孔小平

（广东省广州市公安局番禺区分局刑警大队技术中队，511400）

党的十八届四中全会提出“推进以审判为中心”的刑事诉讼制度改革，刑事审判坚持以证据裁判原则。在这种全新的诉讼模式下，DNA 证据以生物物证的形态出现，以鉴定意见的形式作为法定证据之一，其证明力将面对各方质证的挑战。而 DNA 证据的证明力受制于证据与案件事实联系的有无以及联系的紧密程度，即关联性。DNA 证据具有双联性，即一方面和案件的人事物等的信息存在联系，另一方面又和受审查的人事物等的信息存在联系。本文分析各类案件生物物证蕴含的遗传学上双联信息特点，总结提取保存检验方法，提升 DNA 证据的证明力，为案件的侦破和诉讼提供有力支撑。

1 命案、伤害类案件

1.1 作案工具

案发现场、犯罪嫌疑人住处或其他地方发现的匕首、砍刀等锐器和棍棒、石块等钝器，整件提取，纸盒内悬空固定包装，避免运送过程中在物证袋内翻滚、相互摩擦和沾染，造成二次污染。检验前详细了解案情，根据伤亡人数、损伤情况、作案手法及工具自身特点等，对工具采取擦拭或黏附方式提取，分段或方格多点提取。以期刀刃等部位血迹能检出全部受伤人员基因型，刀柄等部位脱落细

胞检出嫌疑人基因型。

案例：某日火车站广场发生砍人事件，多人受伤，抓获 1 人，案件敏感，影响恶劣，作案人数众说纷纭。现场获取西瓜刀 1 把，对刀刃采取方格化提取，共提取 38 份血迹，检验出嫌疑人（左小指划伤）和 4 名受害人基因型；刀柄擦拭检出犯罪嫌疑人基因型，为确定作案人数和认定犯罪嫌疑人提供了有力的依据。

1.2 手套

现场（尤其外围现场）发现的手套，整件提取，采用胶带粘取法，手套内外两侧分别提取。而吸取法提取，因吸力过大，检验易获得混合基因型，造成线索作用和证据作用减弱。以期手套外侧检出受害人基因型，内侧检出犯罪嫌疑人基因型。

案例：一宗入室盗窃转化为抢劫杀人案，分析戴手套机械性窒息死亡（扼颈、掐颈），周边发现一双手套，手套外侧检出受害人基因型，内侧检出 1 男性基因型，入库比中前科人员，据此快速破案。

1.3 衣帽鞋子等

1.3.1 犯罪嫌疑人衣帽鞋子等

当场抓获的或案发后几日抓获的犯罪嫌疑人身上的或犯罪嫌疑人住处的衣帽鞋子等，对其上的血迹、可疑斑迹或袖子等处的脱落细胞检验，若检出受害人基因型，可确认与案件的联系，有助于锁定犯罪嫌疑人。此类物证尽管可以利用提取笔录证实来源，但若同时能在衣服领口、裤子口袋、鞋子内侧等位置检出犯罪嫌疑人基因型，可增强其证明力。

1.3.2 受害人衣帽鞋子等

受害人衣物鞋子被解除或尸体被拖动搬运过程中，在裤脚、鞋带、腰带等位置留下犯罪嫌疑人的脱落细胞，在这些部位提取可检出犯罪嫌疑人基因型；若衣帽鞋子非直接来源于尸体，可通过检验与案件建立联系。

2 性侵类案件

2.1 纸巾、毛巾、床单及口交案中的唾液斑等

此类物证非直接来源于女事主。可利用精子细胞核含有大量二硫键、能够抵抗去污剂和外源性蛋白酶的特点，对含有精液的混合斑进行二步消化法，以期收集的上清液检出女性成分，沉淀部分检出男性成分。进而使物证具有双向指证能力，同事主和犯罪嫌疑人建立双向联系，既能证明精斑的来源，又能够指明犯罪嫌疑人。

案例：一女事主深夜野外被摩的司机强奸，当时女事主身体不适，被迫口交，报案时不能确认案发地点，搜寻后在某处地面提取新鲜唾液斑。经二步消化法检验，分别检出女事主和 1 男性基因型，从而认定案发现场，缩小了侦查范围，顺利破案。

2.2 阴毛

性交活动中，双方阴毛相互摩擦，可使一方阴毛粘附上对方脱落细胞，同时在摩擦力或其他外力作用下部分阴毛脱落。现场发现的阴毛，剪取毛根和擦拭毛干分别检验，以期分别获得男女双方的基因型。

案例：一女子全身赤裸躺在某公寓楼下，经分析系高坠死亡，排查到疑似起坠房间时，该房已被打扫清理，勘查发现窗户框上黏附一根阴毛。经检查，女死者生前同他人发生过性关系，但其阴棉精斑预实验阴性，后从毛根检出女死者基因型，从而确定了起坠点；毛干擦拭检出 1 男性基因型，确定与女死者发生性关系的对象。

2.3 避孕套

现场发现的避孕套，要立即提取，用棉签在套内蘸取精液并晾干，套外擦拭获取女性脱落细胞，防止套内精液腐败和套外污染。

3 侵财类案件

犯罪嫌疑人窝点查获的涉案物品，有些物品事主可以辨认确认其原所属，但有些物品由于其性状不具有独特性，不能确定其唯一性；有些物品由于事主死亡等原因不能对其进行辨认；有些物品存放于集体宿舍，不能确定现持有人。因此若能检出事主和犯罪嫌疑人基因型，对关联案件、认定赃物和指认犯罪嫌疑人有重要意义。

案例：某日中午某公厕一老太婆被锤杀，排查出犯罪嫌疑人后，在其租住处的米桶里搜出7000元人民币，在钱币上检出老太婆基因型，据此坚定了侦查员的审讯信心。

由于受生物物证自身条件和检验技术的限制，并不是所有生物物证都能检出遗传性学上的双联性信息，可以通过现场勘查提取笔录、辨认识别等方式，证明物证来源，建立物证与案件的联系。同时DNA证据属于间接证据，只能揭示出从犯罪现场收集到的生物检材是否来自于某一个体或与某一个体存在遗传关系，而不能直接证明是谁实施了犯罪。因此必须密切结合其他证据全面审查DNA证据，才能理性运用DNA证据。

综上，在刑事案件侦办过程中，要转变工作思维模式，树立DNA物证遗传学上双联性信息的意识，根据实际情况制定相应的提取检验策略，最大限度地发挥DNA证据在认定案件事实方面的作用。

【参考文献】

[1] 王志刚. 论DNA证据的鉴真 [J]. 证据科学，2015，23（3）：327-337.
[2] 陈学权. 科学对待DNA证据的证明力 [J]. 法政论坛，2010，28（5）：50-61.

提升入室盗窃案现场生物检材提取效能的难点及对策

陈光辉[1]，李纪彬[2]，谢云铁[1]
（1. 广东省中山市公安局刑事科学技术研究所，528400；2. 广东省中山市公安局开发区分局，528400）

近年来，入室盗窃案在许多地区刑事案件发案数中一直占据较大比重，极大地危害着人民群众的财产安全，是困扰当前社会治安管理秩序、影响人民群众对公安工作满意度的重要问题。由于犯罪分子作案手段日趋隐蔽、反侦查意识逐渐增强，给指纹、足印等传统痕迹物证的提取和应用带来了很大困难。随着法医DNA检验技术的日益成熟，特别是DNA实验室微量物证检验能力的普遍提高，现场生物检材对侦破入室盗窃案的技术支撑作用越来越强，已经逐渐成为刑事技术破案的新的亮点和增长点。

受勘查思维、技术条件、检验能力等多方面因素的影响，以往在入室盗窃案现场勘查过程中，接触性DNA等各种微量生物检材很容易被忽视，一定程度上影响了现场勘查质量，没有最大限度发挥刑事技术特别是法医DNA技术的支撑作用。因此，按照公安机关"更多破小案"的新要求，深入剖析影响入室盗窃案现场生物检材提取效能的难点，认真研究相应的对策，及时发现、有效提取生物检材，最大限度提高入室盗窃案现场生物检材的应用效能，已成为重中之重。

1 提升入室盗窃案现场生物检材提取效能的难点

1.1 重"大案"、轻"小案"，现场勘查质量有待提高

由于人力、物力以及体制、工作量等多种因素的影响，许多地区基层刑事技术工作基础较为薄弱，普遍存在重视命案等"大案"、轻视盗窃等"小案"的现象，导致对入室盗窃案件难以开展精细、高质量的现场勘查，大部分注意力停留在传统的痕迹物证，对现场生物物证的有效提取和利用率普遍较低。

1.2 现场生物检材种类和数量少，提取难度大

对于入室盗窃案件，很多惯犯具有较强的反侦查能力，近年来戴手套、脚套等作案的现象逐渐增多，更有甚者在作案后还会有意识地清理现场，导致入室盗窃案件现场遗留的痕迹物证较少，特别是常规生物物证极少，现场勘查时往往难以提取到理想的生物检材，从技术上串并案或认定犯罪嫌疑人具有很大的难度。

1.3 接触性DNA等微量生物检材尚未得到足够重视

接触DNA的应用被称为刑事技术工作的另一场革命，相对于既往只注重以指纹、足迹为主要技术手段的传统勘查模式，接触DNA的有效运用逐渐成为侦破侵财类案件、特别是入室盗窃案件的一件"独门利器"。如果接触DNA的独特作用有所忽略，在入室盗窃案件现场勘查中忽视对现场遗留接触DNA的发现、提取，可能会导致一些有侦破条件的案件因此而错失破案良机。

1.4 现场生物检材的提取方法不符合技术规范

随着DNA检验技术的不断进步，检验灵敏度不断增强，对生物物证的现场提取要求也越来越高。由于生物物证量小体微，很容易受到污染。如果在提取生物检材时没有按照规范戴手套、口罩、帽子，或者对提取到的生物检材没有进行独立包装存放，很容易造成检材受到人为的污染。对于多次提取生物检材时，如果不对手套每次更换，也可能会出现交叉污染。已提取的检材如果没有妥善保管，如日光曝晒或潮湿霉变，均会造成DNA的降解，影响检出率。在提取空白比对样本时，如果使用原来提取检材的工具进行，也会导致空白比对样本受到污染。痕迹显现指纹的"哈显法"，也会形成勘查人员的人为污染。

1.5 勘查范围疏漏，没有及时提取外围现场的关联物证

犯罪嫌疑人在作案的中心现场一般十分小心，试图不留下任何的蛛丝马迹，这是犯罪作案的共同特点。但是对于外围现场，犯罪嫌疑人往往会放松警惕，如在蹲点守候时或者在来往的路线上抽烟、喝水、吃东西，从而会留下很多重要的生物物证。如果没有能够及时扩大搜索和勘查范围，仅仅依靠中心现场的勘查，忽视了外围现场的关联物证，就会遗漏许多重要的生物物证。

1.6 现场保护不到位，导致物证被人为破坏或丢失

由于一些群众缺乏现场保护意识，发现财物被盗后惊慌失措，对现场物品进行随意的翻动，从而会对各种痕迹物证造成人为的破坏，导致一些生物物证无法提取或受到污染；如果接处警人员没有第一时间划定现场保护范围，开展有效的现场保护工作，任由无关人员随意走动、触摸现场的相关物品或进行无关的其他活动，就会导致现场物证的污染或破坏。

2 提升入室盗窃案现场生物检材提取效能的对策

生物物证特别是接触DNA的提取是实验室检验的起点和基础，是整个证据链的首要环节。案件现场生物物证提取的成功与否，关系到整个检验结果的成败。因此，在入室盗窃案件现场勘查中应当加强整体意识、证据意识、关联意识、检材保护意识，不断提高现场生物检材提取效能。

2.1 全面分析，加强整体意识

任何一个犯罪现场都不是孤立存在的，而是由若干个存在于其中的物证通过互相之间的关联而构成的一个有机整体。对于一个案件或者现场从总体上进行把握，更容易看清存在于其中的各个生物物证，而不至于造成检材的遗漏。特别是对于肉眼很难为人所注意的接触类检材而言，这种整体意识更为重要。应当全面分析犯罪嫌疑人进入现场后可能去过什么地方、接触了哪些物品，从整体上来进行全面分析，从而发现可能遗留DNA物质的接触类检材。

2.2 追根溯源，加强证据意识

党的第十八届四中全会通过《中共中央关于全面推进依法治国若干重大问题的决定》，提出要"推进以审判为中心的诉讼制度改革，确保侦查、起诉的案件事实证据经得起法律的检验"。在"审

判中心主义”的诉讼背景下，必须形成事实清楚、证据确实充分，犯罪嫌疑人才能得到应有的惩罚，因此必须从现场勘查环节开始，加强证据意识，做好物证的追根溯源，及时收集和固定证据，确保证据来源的正当性、合法性。

2.3 注重细节，加强关联意识

对于入室盗窃案，除了关注中心现场、出入口等重点，还应重视关联现场。刑事技术人员到达现场后，一定要对案件的发生情况详细询问，如发现的时间、原始状况、有无变动、现场保护情况等，及时扩大搜索和勘查范围，仔细寻找有无犯罪嫌疑人，蹲点守候或者寻找来往的路线，只有完全掌握现场的每一个细节，才能够在现场勘查中及时发现并提取到关键的生物检材。

2.4 严格规范，加强检材保护意识

提取生物检材时必须戴手套、口罩、帽子，以确保检材未受人为污染。提取的生物检材必须分别独立包装，防止交叉污染。检材包装袋上注明检材名称、来源、数量、采集日期等，并有采集人及见证人的签名。对于野外现场应尽量提取未被日光曝晒或雨水冲刷位置的 DNA 生物检材（如血痕、烟头等）。对提取到的生物检材要及时包装存放，多次提取生物检材时，手套要每次更换，防止交叉污染。

总之，入室盗窃案件现场生物检材的表现形式是多种多样的，要立足案件现场结合访问情况，积极思考、认真分析合理推断犯罪嫌疑人的作案过程，多留意生物检材以及可能遗留生物检材的物证的寻找和发现。努力发现和提取与犯罪有关的一切生物物证，为案件侦破和刑事诉讼提供有力的证据支持。

利用反馈法优化血样采集　迎接刑事技术大数据时代到来

王晓伟，谢　波，杨　巍，王孝力
（广东省中山市公安局刑事警察支队，528400）

中山市公安局于 2008 年 4 月启动 DNA 数据库前科人员建设工作，截至 2017 年年初，中山市 DNA 数据库库容已达 25.6 万条，建库数已达全市常住人口 7.7%，仅仅 2017 年第一季度中山市就利用 DNA 数据库破获四宗命案积案，盲比认定犯罪嫌疑人 194 人，破获案件 108 宗。

随着 DNA 数据库建设工作规模化、精细化、效益化的应用特征凸显，中山市的 DNA 数据库也在命案侦破、清网追逃、打击盗抢骗系列案件等工作中发挥巨大作用。随着建库规模的不断扩大，对中山市违法犯罪（嫌疑）人员血样采集工作的要求也越来越高，我们在工作中总结和尝试了利用数据采集反馈法来优化加强血样采集工作，现整理如下与大家探讨。

1 精准督导反馈法，血样不漏采

中山市利用综采、DNA 实验室和数据库管理系统（LIMS）联网的契机，在 LIMS-REG 系统内加入了血样采集送检受理流转功能，血样从基层信息采集室采集后按照“派出所”—“分局”—“市局”逐级送检，送检时效和血卡流向均可控。利用该流程方法，可即时统计出基层派出所按捺指纹但漏采 DNA 血样情况，市局和分局两级均可按照工作需要及时进行督导，确保血样不漏采，并改善了血样的送检及时性。

2 及时比对反馈法，血样不重采

中山市利用综采和指纹系统十指指纹快速查重功能，将指纹查重结果用于 DNA 血样采集反馈工作，凡是指纹采集后有查重数据的 DNA 均进行查重指纹的 DNA 数据倒查，可迅速发现并反馈同一人员血样采集检验情况，现可在分局送检市局前即完成查重工作，对于重复采集且血样检验成功入库的

血卡，系统会自动报警提示暂缓送检，大幅降低后期 DNA 检验费用。

3 交叉复用反馈法，信息不错采

随着综采、DNA 实验室、数据库管理系统（LIMS）的数据联网，我市目前实现了警综人员编号、指纹编号、DNA 编号的三号合一，指纹和 DNA 人员的自然信息均直接复用警综内人员信息，且可自动关联该人员后期处理情况及涉案信息，大大提高了人员信息录入效率和准确性，同时利用多系统信息的交叉复用反馈，确保了人员信息的不错采。

4 主动出击反馈法，重点人员导向采

针对部里提出的一长四必及“更快地破小案”新要求，中山市联合刑侦研判部门，及时反馈本市侵财类案件的输出地户籍人员和聚集区可疑人员情况，组织相关分局结合清查和大规模行动开展重点人员导向采集，确保相关高危人群 DNA 不遗漏采集入库，做到主动建库。

随着 DNA 数据库建设大规模开展，信息化基础工作迎来了新的发展机遇，DNA 采集工作也要及时转变工作观念，变被动为主动，积极适应公安大数据时代的新需求，利用大数据建设机遇，做好违法犯罪（嫌疑）人员的 DNA 数字化接入工作，进一步提升 DNA 检验技术及数据库服务实战的能力，提高 DNA 数据库的使用效能，实现信息高度共享和综合研判。

疑难检材 DNA 提取方法比较

叶乾素，陈祖聪，莫　甜，吴丽和
（广西壮族自治区公安厅物证鉴定中心，530012）

案件 DNA 检验鉴定中常遇到各类疑难检材，微量、污染、陈旧降解生物检材是其中的难点。本次实验通过比较 DNA 实验室经常采用的几种提取方法，为不同疑难检材的检验提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验样本

在同等条件下在载玻片上制作指纹（手脱落细胞），棉签转移；等量的烟头剪片（唾液）；等量的骨粉（陈旧降解检材）。9947（0.1ng/μL）分为 3μL、6μL、9μL。

1.2 方法

硅胶膜法：使用骨骼裂解液（Promega 公司）孵化 1 个小时，QIAquick © PCR 纯化试剂盒（QIAGEN 公司）手工提取，方法步骤按说明书，洗脱体积为 60μL。

硅珠法：取适量检材放入离心套管内管，将裂解液 A、裂解液 B 和 PK（10mg/ml）按说明书比例混匀，滴在检材上。56℃20min，再 99℃10min 裂解。离心，开盖加入吸附液 200μL，离心弃除离心套管内管，加入已预热的吸附液 1 和吸附珠静置 15min。离心弃上清吸附液，沉淀物加入漂洗液（-20℃），震荡混匀。离心弃上清漂洗液，烘干。20μL 洗脱液 56℃孵育 15min 洗脱。取硅珠混合液扩增。

磁珠自动提取法：提取方法按说明书，取检材适量加入裂解液裂解，放入 Kingfisher Duo 仪器，自动完成吸附、漂洗及洗脱回收等步骤，洗脱体积为 30μL。

提取模板用 Identifiler Plus 进行 STR 扩增，3500XL 检测分析，方法按说明书。

2 结果

图谱峰值 RFU≥100 为检出，下表为三次平行实验结果计数的平均值。

检材（完整等位基因数）＼方法	QIAquick	D 盾	Kingfisher Duo
0. 3ng 9947（26）	22	15	26
0. 6ng 9947（26）	24	20	26
0. 9ng 9947（26）	26	17	26
指纹（26）	6	1	26
烟头（29）	25	29	29
骨粉（31）	31	31	31

3 讨论

硅胶膜法、硅珠法、磁珠核酸自动提取法三种方法为本实验室常用于提取骨骼牙齿及微量 DNA 的方法，其中硅胶膜法、硅珠法为手工提取。

3.1 结果质量比较

疑难生物物证检验是刑事案件 DNA 检验中常遇到的挑战，DNA 含量多少、DNA 降解程度，载体及检材污染程度直接影响检验结果。以往多款 DNA 自动提取仪器一般应用于均一的样本如人员血样等检材，难以适应实际案件中各种不同类型的现场检材。本次实验按实际案件检验中遇到的疑难生物种类模拟了脱落细胞、唾液、骨粉等情况，三种提取方法测试中，与硅胶膜法、硅珠法两种手工提取法相比，磁珠自动提取法在上述微量脱落细胞、唾液斑、骨粉、不同含量的 9947 等四类检材的应用均取得比较理想的结果。说明经过改进，目前的 DNA 提取自动仪器已经可适用于各种不同类型的现场生物检材。

3.2 操作流程比较

人工操作提取 DNA 流程步骤复杂，过程中需多次转移试管、更换吸头，对检验人员操作技术要求较高，难以完全避免误操作、污染等风险。自动提取仪器人工介入少，可以降低污染风险。

实验样本无法精确保证骨粉、烟头、指纹等样本 DNA 含量均一，可能导致误差，所以加入不同含量 9947 样本进行比较。硅珠提取法结果并没随 9947 检材量的递增得到相应递增的等位基因数，可能由于人工操作导致的误差。硅珠方法在三种方法中结果不如其他两种方法，也可能是由于本实验室对该方法掌握不够好。自动提取仪器操作相对简单，相比人工操作重复性、稳定性更好，减少误差问题。

硅胶膜法、硅珠法提取所需时间为 1~1.5h，取决于人员熟练程度及检材数量。自动提取仪的时间提取 24 份所需时间为 1.5h 左右，如检验数量多，可通过增加仪器数量或提高仪器通量来提高 DNA 提取效率，将检验人员从大量重复操作中解放出来。

综上，本实验从提取结果、操作难易程度、工作效率等方面对三种 DNA 提取方法进行测试评估，磁珠 DNA 自动提取仪在本次测试中得到了较好的结果，与手工提取相比还具有操作简单、降低污染风险等优势，可适用于案件中各类疑难检材 DNA 检验。

涉枪案件 DNA 检验要点探讨

叶乾素[1]，周丽丽[2]，莫　甜[1]，蒋卓玲[1]
（1. 广西壮族自治区公安厅物证鉴定中心，530012；2. 四川省德阳市公安局刑侦支队，618000）

本文探讨涉枪案件中 DNA 检验的要点，由于致伤工具的特殊性，关注一些易遗漏的部位，制订合理检验方案，可检出有价值的 DNA 结果。

涉枪案件常需要明确受害者损伤的部位，弹道轨迹，击发枪支，持枪者等问题。对 DNA 检验结

果与人体损伤情况、现场痕迹线索及其他微量物证一起综合分析，能为破案提供线索，完善证据链。

枪支是一种特殊的致伤工具，通常要经过装弹、上膛、击发一系列动作。因此在枪支表面及枪内部的弹夹、弹壳表面均可能遗留人体脱落细胞。此外，有些部位在勘查提取中也应关注：1. 弹壳：由于装弹时需用力挤压，弹壳表面遗留有脱落细胞，击发后的弹壳表面仍可检出人 DNA，但摩擦、高温、震动等因素可影响检出率。2. 弹着点：子弹击发后可在物体表面反弹形成跳弹，子弹反弹接触部位也可检出微量 DNA 成分。3. 子弹：子弹在人体中运动形成创道，表面会留下人体成分。4. 枪口内：近距离射击时可产生人体组织碎片回溅的现象。回溅现象产生机理可能是射击枪口的高压高热气体急剧膨胀推动破碎的组织，或是子弹击中人体时产生瞬时高压空腔，向外挤压血液和组织，可能在枪口内外、持枪者手或袖口等部位检出被击者人体成分。

1 检验部位分析

有关枪管口内检出了伤者的 STR 分型的报道并不多见，笔者的实验室在近年来受理的涉枪案件检验中，仅一例在检管口内检出人体 DNA。一方面可能是由于回溅现象产生需要一定的条件，射发枪支与人体的距离、击中部位的组织结构及人体所穿着的衣物质地及厚度均能不同程度影响回溅形成；另一方面可能是检验人员并没有有意识地重点关注和提取这些部位，造成遗漏。结合案件实际情况，不仅只考虑枪支表面检验，还应对枪管口及子弹表面进行检验，检出了有比对价值的 STR 分型。检验结果为确定射击的枪支、验证射击的距离、推断子弹运行的轨迹提供依据。

2 血样前期试验与 DNA 检验结果不符合的分析

枪支作为致伤工具有其特殊性，其创道类型可分为贯通创、盲管创、擦过创等。除盲管创子弹直接留在人体内，贯通创和擦过创均是子弹与人体高速接触后分离。本实验室检验的一例枪案中，十多颗霰弹经初步联苯胺试验和抗人血筛选，均没有得到阳性结果，但其中多颗子弹却检出完整的死伤者成分。分析其原因，子弹击穿人体表皮的瞬间可以充分接触较多的体表细胞，但由于子弹运动速度太快，与人体接触时间极短，而血管破损出血要经过一定时间，子弹表面可能并没有附着足量的血红蛋白，所以会出现血样前期试验阴性而 STR 分型结果为阳性的情况。因此，此类情况不宜因前期检验结果阴性而放弃进一步做 DNA 检验。

3 检验方案的选择

枪支表面的脱落细胞属于微量检材，有些土制枪支与制式枪支相比表面粗糙尘土较多；枪内部提取的生物检材混有火药油污；散落在现场的子弹上遗留的微量生物检材暴露于外部环境中。笔者检验的一例枪案中，土制枪霰弹已经大部分没入现场墙体内，抠出后表面比较紧实地粘满了灰沙，提取转移时为避免损失部分人体组织成分并没有去掉表面的灰沙。考虑到生物检材量少而且杂质多，在消化裂解后用 QIAquick（QIAGEN）纯化以更好地去除杂质。同时适当调小洗脱的体积，以提高 DNA 模板的浓度，得到较理想的扩增结果。

总之，涉枪案件的 DNA 检验与其他类型案件相比有其特殊的关注点，检验人员应结合案件实际考虑周全，不局限于枪支表面的检验，同时还可考虑使用枪支过程的变动规律。而各部位是否能检出 DNA 受多种条件限制，检验时宜选择合适的方案，以提高检出率，使 DNA 检验发挥更大作用。

【参考文献】

[1] 吕晓革，万小妹，左林. 子弹击发对弹壳接触 DNA 提取检验效率的影响［J］. 中国法医学杂志，2013，28（4）：333-334.
[2] 王传海，董玉友，吴勇，等. DNA 检验确定子弹弹着点［J］. 刑事技术，2013（5）：58-59.
[3] 闵建雄. 回溅现象及其法医学意义，中国法医学杂志［J］. 2000，15（1）：53-54.

AutoMate Express™纯化仪联合 GlobaiFiler™试剂盒在快速检验骨骼 DNA 中的应用

王先文，王谢鸿，徐　洁，任　珞
（海南省海口市公安局刑事技术支队，570208）

目前，白骨化尸体一般提取长骨或牙齿进行 DNA 检验，传统的检验方法主要采用有机溶剂法结合磁珠法、硅膜法等，虽然能取得良好效果，但过程较为烦琐，检验时间较长，手工操作无法满足日益增长的检验工作要求。为了缩短检验时间并提高检出率，本实验室联合使用 AutoMate Express™纯化仪和 GlobaiFiler™试剂盒提取、扩增骨骼 DNA，得到了非常理想的检验结果，具体过程如下。

1　材料与方法

1.1　样本

人体肱骨一根、完好牙齿与龋齿各一颗。

1.2　主要仪器和试剂

AutoMate Express™纯化仪及配套试剂 Prepfiler Express BTA Forensic DNA Extraction kit 试剂盒（AB 公司），3500 基因分析仪（AB 公司），Veriti PCR 扩增仪（AB 公司），GlobaiFiler™试剂盒（AB 公司）。

1.3　方法

1.3.1　牙粉与骨粉制备

（1）牙粉制备：取完好牙齿与龋齿各一颗，用手术刀片刮去表层污垢，用超纯水洗净，置入小烧杯中用无水乙醇浸泡，取出，用洁净滤纸擦拭干。将完好牙齿与龋齿分别放入消毒后的砸牙器中砸成粉末，分别称量 160mg，置于 Prepfiler Express BTA Forensic DNA Extraction kit 试剂盒中的骨骼专用裂解管中。

（2）骨粉制备：纯净水清洗骨骼表面，用刚毛刷与刀片刮刷去除骨骼表面附着物，无水乙醇冲淋表面，自然干燥或洁净滤纸擦拭干。将骨骼分成长骨干与长骨关节段两部分，先用锉子将骨干表面外层骨质打磨去除，再使用电钻或者钢锯对骨干进行钻取及拉锯，收集期间产生的骨密质骨粉。用钢锯将长骨关节段锯开，暴露出关节骨松质部分，用剪刀剪碎骨松质（尽量剪取中间部分）并收集。将上述骨密质与骨松质骨粉分别称量 160mg，置于 Prepfiler Express BTA Forensic DNA Extraction kit 试剂盒中的骨骼专用裂解管中。

1.3.2　DNA 提取、纯化

在置有上述样本的骨骼专用裂解管中均加入 BTA 裂解液 300μL、DTT（1mol/L）7μL、PK（20mg/L）10μL，震荡混匀，56℃恒温混匀仪上消化 3h，期间保持 1100rmp 的转速。消化后骨裂解液 10000g 离心 2min，上清转移至过滤柱离心管中，继续 10000g 离心 2min，弃上层滤膜管，将下层产物样品管与配套枪头、枪头套、洗脱管、试剂条按要求放置于管架与试剂条架中，选择洗脱量为 30μL，运行程序，30min 后得到约 30μL 骨骼 DNA 模板。

1.3.3　扩增

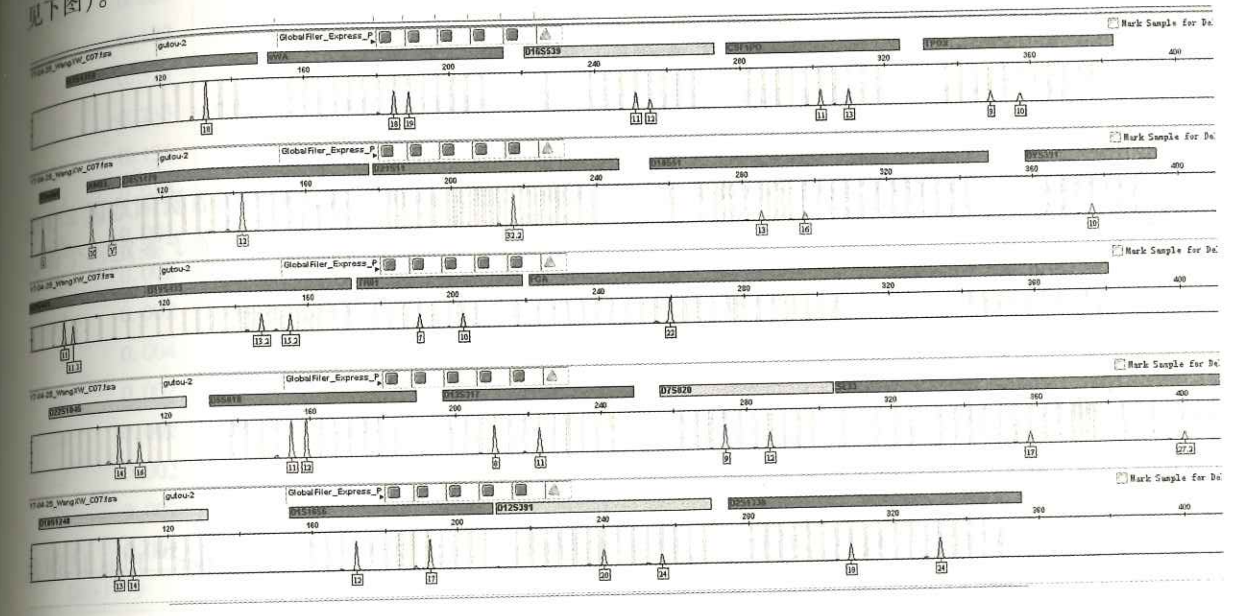
使用 GlobaiFiler™复合扩增试剂盒进行扩增，扩增体系 10μL，DNA 模板量为 6μL，置于 AB 公司 Veriti PCR 扩增仪上按标准程序 30 个循环进行复合扩增，约 80min 后得到扩增产物。

1.3.4　检测分析

使用 AB3500 基因分析仪进行电泳检测，35min 获得检验结果，使用 ID-X 软件进行数据分型。

2　实验结果

联合使用 AutoMate Express™纯化仪和 GlobaiFiler™扩增试剂盒提取、扩增的四个样本（完好牙齿、龋齿、长骨骨密质、骨松质）DNA，均得到了非常理想的检验结果，RUF 值在 3000~8000，且不同基因座的峰值高低均匀，杂合子两峰高比例>75%，无杂带，无发生污染情况（骨密质 STR 分型见下图）。



骨密质 STR 分型结果图

3　讨论

使用 AutoMate Express™纯化仪及配套的 Prepfiler Express BTA Forensic DNA Extraction kit 试剂盒对骨骼及牙齿的 DNA 进行提取、纯化过程简单，对骨骼的前处理环节要求不高，只要收集到适量的骨粉就行，不需要用液氮研磨仪进行精细研磨，试剂中裂解液脱钙效果非常理想，消化时间短。其纯化程序操作简单、快速，并能获得高质量的 DNA 模板。

此外，使用 GlobaiFiler™试剂盒扩增时间非常短，只需 80min。对于骨骼牙齿类检材来说，一般情况 DNA 模板含量较少，在 10μL 体系下，GlobaiFiler™试剂盒的模板量可达 6μL，相对提高了模板 DNA 的浓度，非常适合微量骨骼 DNA 模板的扩增。尤其是只需一次检验即可得到 21 个常染色体 STR 基因座和 3 个性别基因座分型信息，可显著提高个体识别率与累计亲权指数，可以有效避免 Amelogenin 基因座 Y 等位基因丢失时导致的性别误判。

综上，联合使用 AutoMate Express™纯化仪和 GlobaiFiler™扩增试剂盒提取、扩增的骨骼、牙齿 DNA，非常的快速、简洁，最快可以在 7h 内获得理想的检验结果，在针对骨骼检验的各类案件中具有很高的应用价值。

【参考文献】

[1] 赵斌，侯光伟，王友凤. 利用磁珠法提取陈旧骨骼 DNA［J］. 中国法医学杂志，2014（3）：253-254.
[2] 任文彦，郝红蕾，王怀锋等. GlobaiFilerTM 试剂盒在尸骨鉴定中的应用［J］. 刑事技术，2015（5）：379-381.
[3] 张璐. 微量 DNA 检验技术及展望［J］. 警察技术，2012（2）：4-6.

四川省资阳地区汉族人群 18 个 STR 基因座的遗传多态性分析

姚伊人[1]，白　雪[1]，李圆原[1]，何林原[1]，
喻永敏[2]，马温华[1]，莫晓婷[1]，李万水[1]
（1. 公安部物证鉴定中心，100038；2. 重庆市公安局物证鉴定中心，400707）

本文主要应用公安部物证鉴定中心研发的 DNA Typer™19 Plus 试剂盒，对四川省资阳地区 272 例无血缘关系汉族个体的 18 个常染色体 STR 基因座进行基因多态性调查，为法医亲子鉴定、个体识别、DNA 数据库建设提供群体遗传学数据。

1　材料与方法

1.1　样本

选取资阳地区 272 名健康无血缘关系的汉族个体，用纸质血卡采集血液。

1.2　试剂与仪器

9700 型 PCR 仪扩增（ABI）、3730-XL 型遗传分析仪（ABI 公司）、DNA Typer™ Plus 试剂盒（公安部物证鉴定中心）。

1.3　方法

参照 DNA Typer™Plus 试剂盒说明书，应用 ABI9700 型 PCR 扩增仪进行复合扩增，扩增产物用 ABI3730-XL 型遗传分析仪进行检测，Genemapper IDX 对电泳数据进行分析。

1.4　统计分析

应用 Modified-power state 分析软件对群体数据进行统计处理，得到 18 个 STR 基因座等位基因频率、平衡检验结果、杂合度（H）、个体识别能力（DP）、匹配概率（Pm）、非父排除概率（PE）和多态性信息含量（PIC）等法医遗传学参数。

2　结果与讨论

四川资阳地区 272 个汉族个体的 18 个 STR 基因座上共检测出 203 个等位基因。基因频率和遗传学参数见表 1、表 2。经 X^2检验，所有基因座基因频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡（P>0.05）。18 个 STR 基因座 H 值为 0.710~0.938，PM 为 0.020~0.129，PD 为 0.871~0.980，PCI 为 0.672~0.904，PE 为 0.443~0.872。在该地区汉族人群中遗传多态性最差的基因座为 D3S1358，有别于其他地区汉族人群中多态性较低的 TPOX 和 TH01 两个基因座。其余的 17 个 STR 基因座均具有比较高的遗传多态性。实验结果表明，本文所述 18 个 STR 基因座有高度的个体识别能力，并首次报道了四川资阳地区汉族人群的遗传多态性，为人类群体遗传学及法医学后续研究提供翔实可靠的基础数据。

表 1　四川资阳地区汉族人群 18 个 STR 基因座的等位基因频率（N=272）

D5S818	
Allele	Frequency
7	0.026
8	0.004
9	0.061
10	0.189
11	0.324
12	0.233
13	0.131
14	0.013
15	0.004
16	0.002
17	0.002
19	0.004
20	0.002
21	0.002
23	0.002
29	0.002
33.2	0.002

D8S1179	
Allele	Frequency
8	0.004
10	0.105
11	0.099
12	0.116
13	0.230
14	0.204
15	0.151
16	0.072
17	0.011
18	0.009

D16S539	
Allele	Frequency
8	0.009
9	0.265
10	0.129
11	0.292
12	0.193
13	0.097
14	0.013
15	0.002

D21S11	
Allele	Frequency
28	0.033
28.2	0.004
29	0.259
29.2	0.004
30	0.257
30.2	0.006
30.3	0.006
31	0.097
31.2	0.072
32	0.035
32.2	0.167
33	0.006
33.2	0.048
34.1	0.002
34.2	0.006

D6S1043	
Allele	Frequency
10	0.033
11	0.116
12	0.131
13	0.134
14	0.162
15	0.029
17	0.029
18	0.167
19	0.153
20	0.035
20.3	0.002
21	0.009

D13S317	
Allele	Frequency
7	0.002
8	0.325
9	0.101
10	0.153
11	0.246
12	0.143
13	0.022
14	0.007

PentaE	
Allele	Frequency
5	0.064
8	0.006
9	0.007
10	0.040
11	0.169
12	0.116
13	0.035
14	0.094
15	0.103
16	0.074
17	0.057
17.4	0.002
18	0.088
18.4	0.002
19	0.051
20	0.024
21	0.028
22	0.013
23	0.013
24	0.007
25	0.007

D3S1358	
Allele	Frequency
12	0.002
13	0.002
14	0.044
15	0.349
16	0.320
17	0.222
18	0.053
19	0.007

TPOX	
Allele	Frequency
7	0.004
8	0.494
9	0.119
10	0.031
11	0.331
12	0.020

D12S391	
Allele	Frequency
14	0.002
15	0.013
16	0.004
17	0.083
18	0.225
18.3	0.002
19	0.208
20	0.179
21	0.114
22	0.089
23	0.050
24	0.018
25	0.013

D18S51	
Allele	Frequency
12	0.046
13	0.171
14	0.224
15	0.171
16	0.145
17	0.061
18	0.066
19	0.040
20	0.031
21	0.013
22	0.018
23	0.006
24	0.004
25	0.002
27	0.002

TH01	
Allele	Frequency
6	0.107
7	0.292
8	0.051
9	0.458
9.3	0.040
10	0.051

FGA	
Allele	Frequency
18	0.018
19	0.037
20	0.057
21	0.121
21.2	0.004
22	0.208
22.2	0.007
23	0.200
23.2	0.007
24	0.164
24.2	0.006
25	0.107
25.2	0.004
26	0.042
27	0.018

D19S433	
Allele	Frequency
11	0.004
12	0.028
12.2	0.006
13	0.296
13.2	0.057
14	0.257
14.2	0.116
15	0.070
15.2	0.131
16	0.011
16.2	0.026

vWA	
Allele	Frequency
14	0.289
15	0.022
16	0.143
17	0.257
18	0.175
19	0.096
20	0.013
21	0.006

D2S1338	
Allele	Frequency
16	0.018
17	0.088
18	0.110
19	0.180
20	0.114
21	0.028
22	0.050
23	0.176
24	0.158
25	0.064
26	0.011
27	0.002

CSF1PO	
Allele	Frequency
7	0.007
8	0.004
9	0.055
10	0.208
11	0.259
12	0.384
13	0.055
14	0.026
15	0.002

D7S820	
Allele	Frequency
7	0.004
8	0.140
9	0.050
10	0.195
11	0.360
11.1	0.002
12	0.217
13	0.031
14	0.002

表 2　四川资阳地区汉族人群 18 个 STR 基因座法医遗传学参数（N=272）

基因座	H	PM	PIC	PD	PE	PI
D5S818	0.765	0.080	0.752	0.920	0.535	2.125
D21S11	0.831	0.056	0.796	0.944	0.658	2.957
D7S820	0.776	0.095	0.727	0.905	0.555	2.230
CSF1PO	0.783	0.119	0.693	0.881	0.568	2.305
D2S1338	0.857	0.032	0.857	0.968	0.708	3.487
D3S1358	0.710	0.129	0.672	0.871	0.443	1.722
vWA	0.768	0.076	0.758	0.924	0.542	2.159
D8S1179	0.816	0.049	0.824	0.951	0.629	2.720
D16S539	0.776	0.084	0.747	0.916	0.555	2.230
PentaE	0.938	0.020	0.904	0.980	0.872	8.000
TPOX	0.867	0.047	0.824	0.953	0.729	3.764
TH01	0.867	0.047	0.824	0.953	0.729	3.764
D19S433	0.798	0.061	0.781	0.939	0.595	2.473
D18S51	0.867	0.047	0.824	0.953	0.729	3.764
FGA	0.867	0.047	0.824	0.953	0.729	3.764
D6S1043	0.846	0.032	0.856	0.968	0.686	3.238
D13S317	0.757	0.084	0.746	0.916	0.522	2.061
D12S391	0.867	0.047	0.824	0.953	0.729	3.764

【参考文献】

[1] 封宇，张建，张金辉，等. 重庆地区汉族人群 18 个 STR 基因座的遗传多态性［J］. 中国法医学杂志，2015，30（6）：610-611.

[2] 王乐，赵兴春，张建，等. 新疆巴州地区汉族人群 18 个 STR 位点的遗传多态性［J］. 中国输血杂志，2013，10（26）：1015.

[3] 白雪，姜成涛，郭磊，等. 西藏藏族人群 18 个 STR 基因座遗传多态性［J］. 中国法医学杂志，2013，1（28）：58-59.

[4] 王超群，赵兴春，孙启凡，等. 山东菏泽市汉族人群 18 个常染色体 STR 基因座遗传多态性［J］. 中国法医学杂志，2015，5（30）：519-520.

两种提取脱落细胞方法在 DNA 案件检验中的应用

张　玥，范英南，宋　婷
（重庆市公安局物证鉴定中心，400021）

微量脱落细胞的充分提取是微量 DNA 检验成功的前提。Robert J. Brownlow 曾表示在提取样本的时候选择正确的提取方法很重要。当 DNA 模板量少于 100pg 时被称为 LCN（lowcopy number），是法医物证 DNA 检验的难点，STR 片断分型时经常会出现"优势扩增"或"无效扩增"等现象，给实际判案带来困难。

结合本实验室日常检案，在对微量检材提取方法相同的条件下，分别用磁珠法和改良硅珠法两种

DNA 检验方法对微量脱落细胞样本进行比较分析。

1　材料和方法

1.1　主要实验材料、仪器、试剂（盒）、分析软件

微量脱落细胞。Amp FlSTR Identifiler-plus 试剂盒、Minifiler 试剂盒、Godeneye™ 20A 试剂盒、Gene Amp PCR System 9700、3130xl Genetic Analyzer、Data Colletion IDv 2.0 软件、Gene Mapper IDv 3.2 软件，试剂（盒）及软件均来自 ABI 公司。

1.2　样本采集及处理

微量脱落细胞类检材 667 份，来自本实验室 2013 年 12 月至 2014 年 4 月受理的各类刑事案件。其中包括如瓶口、吸管、衣裤、手套、手印、脚印、手套印及作案工具、电筒、门把手等。

衣裤、鞋袜、帽子、口罩、塑料袋、砖块、绳索上的脱落细胞，均用脱落细胞粘取器采集，转移至 1.5ml 离心管中；其余检材均用干湿两步法擦拭法转移至 1.5ml 离心管中，干湿两步法擦拭过程中棉签不能过湿；棉签各个面都充分利用，多次擦取，充分利用棉签，以减少损失。

1.3　样品 DNA 的提取

DNA IQ 磁珠法进行 DNA 提取步骤如下：取检材放入 1.5ml 离心管中，加入 500μL 裂解液，5μL DTT，95℃孵育 30min 后，吸附上清液转移到另一个 1.5ml 离心管中，加入 5μL 磁珠，震荡 10min，放入磁力架，将配好的洗液 100μL 洗 3 次，最后一次用 75%酒精洗涤，干燥后加入 20μL 洗脱液 65℃ 5min，最后吸出液体到 0.5ml 离心管中，保存备用。

改良的硅珠法进行 DNA 提取步骤如下：取检材放入 1.5ml 离心套管中，加入 150μL 裂解液，99℃孵育 10min。8000rpm，离心 30s；加入 200μL 吸附液后 8000rpm，离心 2min 后再加吸附液 800μL。加入 16μL 硅珠，静置 15min。8000rpm，离心 1min；离心后倒掉试管中液体；再次 8000rpm，离心 10s，避开硅珠吸掉余液。加入 750μL 漂洗液振荡均匀，8000rpm，离心 1min；离心后倒掉试管中液体；再次 8000rpm，离心 10s，避开硅珠吸掉余液。56℃，干燥 2min。加入 20μL 洗脱液，振荡硅珠均匀。56℃孵育 15min。17000rpm，1min，保存备用。

1.4　PCR 复合扩增

Identifiler-plus 试剂盒反应体系 10μL，引物 2μL，Buffer4μL，模板 1μL，加 H_2O 至总体积为 10μL。反应参数：95℃，11min；94℃，20 s；59℃，3min；60℃ 10min；变性、退火、延伸共 28 个循环。

1.5　扩增产物的检测

PCR 扩增产物用 ABI 3130xl 基因分析仪进行毛细管电泳，用 Gene Mapper ID v3.2 软件分析 STR 基因型。同一样本均设 Allelic Ladder、空白阴性和阳性对照。

2　结果

样本经 Data collection 3.0、Gene Mapper 3.2 软件进行数据提取和分析，结果显示，用改良的硅珠法检测微量脱落细胞，提取率有显著提高。

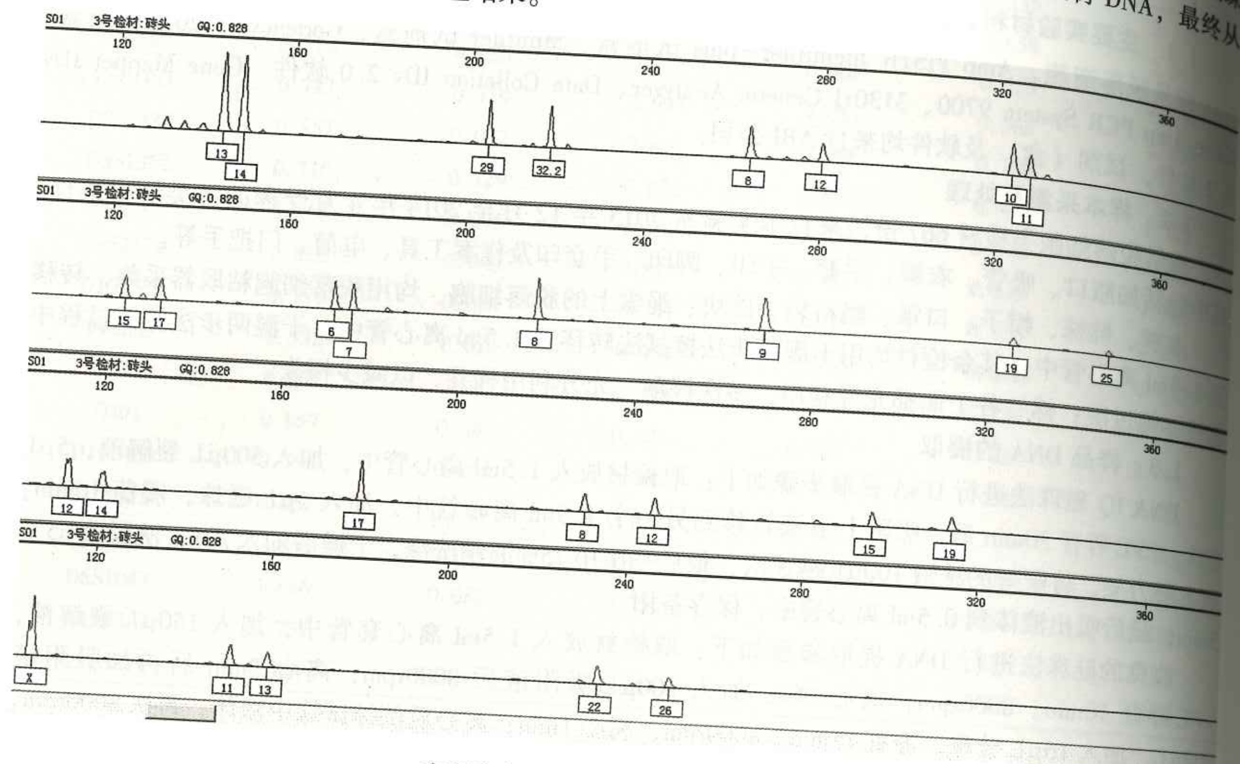
2.1　不同试剂盒检出位点检测结果

2 种提取检材 DNA 进行 STR 检验的结果

提取方法	样本数（个）	成功数（个）	成功率（%）
磁珠法	303	129	42.6
改良硅珠法	364	172	47.3

2.2 典型案例

2014 年某日，重庆市某地发生一起杀人碎尸案，在现场提取到作案工具砖头，经过第一次磁珠检验并未获得理想结果，在第二次复检的过程中，用改良后的硅珠试剂盒提取该检材 DNA，最终从“砖头”上获得了理想的 DNA 分型结果。



改良后硅珠法试剂盒基因位点检测砖头

3 讨论

随着 DNA 检验技术灵敏度的提高和各级公安机关应用 DNA 技术破案的意识日益增强，越来越多的案件需要进行微量脱落细胞 DNA 检验，Gill 等最早将微量 DNA 定义为模板量小于 100pg 的 DNA；Caddy 等则将 200pg 作为界定微量 DNA 的标准。

目前，提取微量脱落细胞 DNA 的方法很多，只要采用的方法能够获得用于 PCR 分析的 DNA 模板都可以使用。在我们实际检案的工作中，应该选用在自己实验室得到验证的最佳方法。现阶段，本实验室同时采用磁珠法和改良的硅珠法提取微量脱落细胞 DNA。

磁珠法的优点在于操作简便、DNA 提取和纯化一次完成，能有效去除杂质干扰，还可以通过调整洗脱体积改变提取到的 DNA 浓度；而硅珠法是提取和纯化 DNA 的常用方法之一，适用于各类案件检材，尤其适用于腐败、污秽等检材，具有经济、简便、快速等优点。但由于常规硅珠法实验操作复杂，实验过程中模板 DNA 量损失较大，对微量检材的检验效果欠佳。本文运用改良后的硅珠法来提取微量脱落细胞，结合前期日常工作检案及试点阶段的研究结果，通过对磁珠法和改良硅珠法实验的结果进行比较，发现运用改良后的硅珠法比磁珠法在检出率上提高了 5 个百分点。当然，这个结果只是一个阶段性的试验，影响微量脱落细胞 DNA 检验成功率的因素包括个体差异、载体属性、接触时间、遗留时间、检验时能否突出重点部位、检验策略的选取和结果分析及是否现场勘查或送检过程中有检材的污染等因素，稍有不慎就会导致检验结果不理想甚至出现偏差、错误。因此若提高微量 DNA 检验成功率，就需要对微量生物检材科学提取，及时检验、选择合适的检验策略与方案，对检验结果需结合案情综合研判、谨慎分析，对于微量脱落细胞检材中的模板 DNA，扩增时循环数的改变、是否进行梯度扩增等方法都会对结果有影响。本文在一个阶段限定的时间里就两种提取方法在微量脱落细胞提取率上做了统计，为大家提供一个提取微量脱落细胞 DNA 的参考数据，增加一个提取微量脱落细胞 DNA 的检验方法，长期效应尚有待进一步研究和探讨。

【参考文献】

[1] Robert J. Brownlow Kathryn E. Dagnall, et al. A Comparison of DNA Collection and Retrieval from Two Swab Types (Cotton and Nylon Flocked Swab) when Processed Using Three QIAGEN Extraction Methods [J]. J Forensic Sci, 2012, 57 (5): 713-717.

[2] 周怀谷，张晨. 全基因组扩增法应用于低拷贝数 DNA 检测 [J]. 法医学杂志. 2006 年第 1 期.

[3] 董迎春，李诗柳，等. 改良硅珠法提取 DNA 的灵敏性及稳定性评价初探 [J]. 中国法医学杂志，2015，(1).

[4] Gene Mapper ID v3.2 user' s manusl [J]. Applide Biosystem, 2005.

[5] Gill P., Whitaker J., Flaxman C., et al.. An investigation of the rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100 pg of DNA [J]. Forensic Sci Int, 2000, 112: 17-40.

[6] Caddy B., Taylor G. R.. A review of the science of low template DNA analysis [J]. 2008, www.homeoffice.gov.uk/publications/police/790604.

[7] 陈松，李万水，胡兰，等. 微量 DNA：容易忽略的生物物证 [J]. 刑事技术，2004 (1): 19-21.

从现场勘查到 DNA 检验中基层公安工作中存在的问题浅谈

屠千千

（重庆市公安局南岸区分局刑侦支队，400061）

DNA 检验分析技术在处置各类案件、重特大事故及自然灾害等重特大事件中发挥着个体识别及亲子鉴定的重要作用，作为证据也越来越受到重视，目前已成为现代法庭科学中必不可少的技术手段。重庆市公安局南岸区分局刑事科学技术室 DNA 实验室于 2011 年建成并投入使用。六年来，DNA 检验鉴定为我区案件的侦破发挥了巨大的作用，但也面临着现场全勘的新形势下出现的一些新问题，影响其进一步更好地发挥有力的证据作用。笔者对出现的这些问题进行了梳理和讨论，供广大基层工作者参考借鉴，以便在 DNA 检验工作中能够作出及时有效的分析，提高工作效率，为案件侦破提供有力证据。

1 现场勘查人员提取生物检材的水平参差不齐

随着人们文化水平的提高，犯罪分子的反侦察能力也有所提高，现场勘查过程中提取到指纹、足迹等传统物证的概率大大减少。得益于 DNA 检验技术的发展，生物脱落细胞及汗潜指纹等微量物证的检出率越来越高，而汗潜指纹擦拭物提取并检出的成功率很大程度上取决于现场勘查人员的提取能力。由于勘查人员水平参差不齐，提取的生物检材的有效率相差悬殊，现勘人员对检材的质量有直接的影响。笔者曾对本单位各组现场勘查人员提取的脱落细胞类生物检材的检出率进行了统计，不同组间的检出率差距较大。另外面临全勘的形势，派出所刑侦民警也参与到某些案件的现场勘查工作，必要时也可进行生物检材的提取，由于派出所刑侦民警大多没有经过系统专业的现场勘查相关知识的培训，他们所提取的生物检材的质量无法保证。笔者曾看到过送检人员赤手触碰检材及多个检材存放在同一物证袋中的现象。

笔者建议，在今后的工作中应加强对现场勘查人员的培训，组织开展技术交流会，发扬好的经验

和做法，提升现场勘查人员的整体素质。

2　生物检材数量庞大，DNA 实验室检材检出率和工作效率有待提高

我区送检案件量逐年增长，伴随而来的情况就是送检的生物检材数量也随之增长。截至今年3月，我局 DNA 实验室共受理各类案件近 6000 多起，为大量的重特大刑事案件的成功侦破提供了关键证据，在揭露犯罪、认定犯罪、排除无辜及亲缘关系及尸源认定过程中发挥了至关重要的作用。但当前 DNA 检验面临生物检材数量庞大、种类繁多、存在环境复杂等多种问题，影响实验室工作效率。虽然 DNA 检验水平在提高，但在检材数量大量增长的情况下，检材的检出率的提高不够明显。有些现场勘查人员为了提高案件检出率，同一案件送检多个生物检材。如某个盗窃案送检十个指纹手印擦拭物，生物检材质量鱼龙混杂，最终结果检出二个混合基因型，虽然此案件视为检出，但事实上降低了生物检材的检出率，造成了人力、物力及财力的浪费。另外，多数基层公安机关 DNA 实验室还未配备自动化工作站，所有案件生物检材均由检案人员手动操作，加之检案后的材料档案制作、日常各种报表、各类培训学习、执勤备勤等其他工作，民警身心疲惫，工作效率不高。

面对庞大的工作量，笔者建议档案制作等工作交由文员整理，DNA 检验人员则专心案件的检验，尽职尽责，对案件的检验做到细致入微，现场勘验人员适当甄别生物检材的质量，分批送检，共同促进工作效率的提升。

3　实验室环境问题堪忧

2016 年 12 月 19 日，公安部五局发布了《关于进一步规范和加强全国公安机关 DNA 鉴定工作的通知》，我市紧急召开全市 DNA 实验室主任及专业技术民警业务培训会，学习文件精神、就实验室规范化部署落实自查等工作。我区 DNA 实验室高度重视，组织专门力量对 DNA 实验室进行实地检查，排查出多个污染风险：①空调常年出现不制冷不制热现象，通排风系统初、中、高效过滤网均未及时更换，影响通风效果。②质控库建设不够全面。前期实验室只对技术大队民警已建立质控库，但刑侦支队案侦民警，派出所案侦民警均未入库。③在预处理室及提取室未将常量检材和微量检材分开处理，由于空间限制，无法满足常量检材和微量检材各占一室处理的条件。④剪刀、镊子等耗材重复使用，常规水洗、高温消毒的方法可能达不到完全清除残留 DNA 的效果。⑤实验室内部的地面、操作台、扩增仪等设备未做到定期清洁，残留的 DNA 长期累积必然会影响检案的结果。自本实验室运行以来，虽未发生大规模的污染事故，但存在较大的隐患。笔者建议，实验室检验人员应严格按照资质认定规章和公安部发文的要求进行管理，及时排除隐患，确保检验工作顺利进行。

4　办案人员对 DNA 检验鉴定结果应做到合理应用

自 2011 年我局 DNA 实验室建立以来，基层公安机关民警在办案应用中已实实在在地尝到了甜头，DNA 检验鉴定已成为打击犯罪的精确制导武器和提高打击犯罪效能新的增长点。但基层领导及办案人员对 DNA 结果的依赖有所神话，认为只要 DNA 检验有结果就一定没有问题。但现实是检案人员有时作出的结果或者提供的线索可靠性较差，需要办案人员对线索进行核实，这种情况对检验人员和办案人员来说都要承担一定的风险。鉴于这种情况，笔者建议，对基层领导及办案人员进行宣贯，告知如何正确高效合理利用 DNA 检验结果。同时检验人员应谨慎判读 DNA 检验结果，以免造成不必要的麻烦。

综上所述，基层公安机关在生物检材的提取及 DNA 检验工作中存在诸多问题，需要各个层级人员共同努力克服，目的是提高基层公安工作效率，提升服务人民的大局意识。

浅谈法医 DNA 检验的污染与防范

肖向宇，冯　涛

（四川省成都市公安局刑警支队刑事技术处，610061）

法医 DNA 检验技术自诞生以来，为侦查、诉讼发挥了巨大的作用，甚至获得了“证据之王”的美誉，但我们也不可忽视，由于 DNA 检验技术的灵敏性很高，导致极易被污染，极微量的污染便可导致结果错判，因此法医 DNA 污染的防范和监测应得到足够的重视。

1　DNA 污染的来源

DNA 污染属于物证污染的一种，是指生物检材在提取或检验过程中混有含 DNA 的外源生物物质，造成 DNA 检验的结果发生改变。法医 DNA 污染可分为实验室外污染与实验室内污染。

1.1　实验室外污染

主要是指样品在送入实验室之前发生的污染。一般是指在现场勘查及保存、送检过程中造成的污染，其来源可分为三类：①人的污染，在上述过程中，勘查人员不可避免地会与物证实体发生接触，如果自身防护措施不当，就可能造成人员对现场物证的污染。②物证之间的交叉污染，在现场提取、包装、保存、送检等环节中，物证与物证之间既可能发生直接转移，又可能发生二次转移。③其他物体的污染，物证与其他物质客体之间，如提取工具、封装材料等，也会发生接触，有可能造成物证的污染。

1.2　实验室内污染

是指样品在实验室内部检验过程中产生的污染，其来源常见于：

（1）实验室人员的污染：如生物检测安全操作和消毒知识学习不到位，没有形成良好的实验习惯；疲劳工作后防污染意识下降，警惕性降低；操作过程中受到外因干扰等。

（2）样品的交叉污染：如样品在检验过程中的处理、再次包装、保存不规范，造成样品相互污染；没有实现人员样本和现场检材在时间或空间上的分离检验；检验过程中出现提取液飞溅相互污染等。

（3）设备设施的污染：如设备设施、提取用具清洗消毒不彻底，甚至不作清洁消毒处理；自动化工作站运行出错造成的污染；保洁工具交叉使用等。

（4）扩增产物污染：PCR 产物拷贝量大（一般为 10^{13}拷贝/ml），极微量的 PCR 产物污染，就可以形成假阳性。在扩增产物的转移、保存过程中，极易对移液器、吸头或相关储存设备造成污染。

（5）气溶胶污染：气溶胶（aerosol）是悬浮于气体中，粒径一般为 0.001um～100um 的固体、液体微小粒子形成的胶溶状态体系，其本身就是污染物。实验过程中，空气与液体面摩擦时就可能形成气溶胶污染，在 DNA 检验的提取、扩增、电泳等操作时剧烈地震荡 EP 管、开盖、加样及污染的移液器反复加样时都可形成气溶胶污染。

（6）其他污染：常见的有试剂、耗材、废弃物的污染。

2　实验室外污染的防范措施

常见的措施有：（1）加强现场勘查人员防污染的意识。（2）现场提取生物检材时应做好个人防护，提取人员手上的任何切口和擦伤都要及时处理。（3）提取检材时必须使用未污染的提取用具、试剂和转移用载体，禁止赤手触摸检材。（4）禁止多件检材混合包装，禁止重复使用封装材料，封

装材料应符合相关要求，提取的检材要进行唯一性标识。（5）提取的检材的保存、调用和处置应符合公安机关物证保管规则及相关技术标准的要求，并及时送检。

3 实验室内污染的防范措施

针对实验室内产生污染的原因采取相应措施，可以减少污染发生的风险，常见的措施有以下几点：

3.1 环境控制

一是按要求分区。法医 DNA 实验室的各区域应当相互独立，单向流动，在实验开始后严禁返回已完成操作的实验区间。区域间应配备传递仓、缓冲区、紫外灯等设备。各区域间应有缓冲区供实验人员换工作服及鞋，各区域的设备和物品（移液器、试剂架等）应当严格区分，不得混用，不同区域应着不同的工作服，实验人员离开时不得将工作服带出。二是通风排放合理。DNA 提取室、试剂配制区等 PCR 扩增前区应设置正压通风系统，避免吸入 PCR 产物，同时各区间应独立送排风，以免交叉污染；PCR 扩增区、电泳区这种 PCR 扩增后区应设置负压通风系统，气体直接排出实验室，不排入其他区，因为在这两个区域有可能产生大量游离分子及气溶胶，容易对其他区域造成污染。三是应有警示标志。实验室应有明确标识，对未经授权人员进入影响检验质量的区间进行控制，防止外来人员带来的污染。四是严格监控环境。实验室应定期进行环境和内务检查，应重点关注扩增前/后区的气压监测、设备设施使用后的清洁消毒情况及记录。

3.2 供应品的控制

应对检验结果有影响的供应品进行控制，以确保设备、消耗品等在选择、购买、验收和存储过程中符合质量标准，排除供应品方面的污染来源。实验室应优先选择已经获得产品认证/质量管理体系认证的供应商提供的产品。对影响检验结果质量的重要设备、消耗品在投入正式检验之前应通过技术评价（如实验证实）确认其指标符合规定的要求。应记录关键试剂的批号，以便溯源。应保障并监控消耗品、试剂的存储环境，定期对其状态进行核查，以保证其质量的有效性。

3.3 样品的处置

一是应对样品的接收、存储、流转、处置进行有效的控制并记录，形成明确详细的“保管链”，防止样品在流转过程中出现混淆、误用的情况。二是样品应在工作区内单向流动。三是实行检材、样本分类检验，现场检材和比对样本的检验应在时间或空间进行分离，特殊的检材（特别是接触性 DNA、腐败检材）应单独提取、检验，避免潜在的污染。四是检验过程中产生的提取液及 PCR 产物，如需保存的应在-20 度环境中保存，并做好封装和产物间的隔离。

3.4 废弃物的处理

实验室废弃物处理的原则为：防止污物扩散、污染；分类收集、存放；及时处理，减少其在实验室存放的时间；处理应符合环保要求，尽可能移交专业处理部门进行无害化处理。例如，①使用过的一次性手套、口罩、棉签、试剂包装盒等应放入指定容器内，容量不能超过容器 3/4。②使用过的枪头、EP 管、试剂瓶等，应放入含有 10%次氯酸钠溶液的容器内浸泡后处理。③含有 PCR 产物的所有液体及废弃物应放入含有 1 mol/L HCl 的容器中浸泡后处理。④组织、废液及其他废弃物须放在防漏的容器储存，经封口、打包后集中处理。

3.5 人员控制

实验人员养成良好的实验习惯，是避免人为污染的重要措施之一。实验室应积极开展防污染相关知识的宣贯培训，提高实验人员的操作水平及防污染的意识，并通过监督手段落实人员的操作执行。在实验过程中，实验人员要严格按照操作规程进行，做好自我防护，避免对样品造成污染。实验前后

一定要做好清洁消毒工作，特别是实验完成后，清洁消毒一定要彻底，破坏残留的 DNA，常用的清洁消毒方法有乙醇消毒、次氯酸钠消毒、紫外照射法、高温高压变性法等。

3.6 其他

其他的防范措施如：①建立疑难检材、接触性检材的检验结果专家复核机制，针对此类检材制定相应的复核程序及结果判定标准。②建立完整的检验、勘查人员等 DNA 数据质控库，确保能及时反映 DNA 检验结果是否受到质控库人员的污染。③建立纠正和预防机制，当发现 DNA 污染发生时，实验室应有程序规定如何进行纠正或纠正措施，找出产生污染的根本原因，分析采取措施的风险和效果，杜绝此类污染的再次发生，并追溯此次污染是否对之前的结果造成影响；当实验室通过人员监督、质量控制、数据分析等手段发现实验室存在潜在污染可能时，实验室应有预防措施防止污染的发生。

4 污染的监测

一次检验过程是否发生污染，最有效的手段就是设置对照。按照行业标准《法庭科学 DNA 实验室建设规范》（GA/T 382—2014）及《人类 DNA 荧光标记 STR 分型结果的分析及应用》（GA/T 1163—2014）的要求，每一次检验应设置阳性与阴性对照，每 96 孔板不少于 2 个分型标准物，检验后，已知的阳性参照物应分型结果正确，阴性参照物应无基因峰。同时 DNA 实验室还应采用重复实验、核查图谱、数据库比对等方法监测检验是否有污染。

科技不断发展，DNA 技术也在不断进步，DNA 实验室应积极落实污染防范措施并采用更为先进的防污染的手段，如光触媒技术、1μL 低体积 PCR 反应技术等，使实验室的污染得到有效控制。

【参考文献】

[1] 陈松. 法医 DNA 实验室的 DNA 污染和防范［J］. 刑事技术，2007（3）：16-20.
[2] 蒋海云. 现场勘验阶段物证污染的防控［J］. 法医学杂志，2009，25（6）：461，464 .

浅析不同提取方法对接触性 DNA 检验结果的影响

孔智明[1]，徐春梅[2]，曾相铭[3]
（1. 贵州省黔南州公安局，558000；2. 贵州省黔南州公安局，558000；
3. 贵州省都匀市公安局，558000）

随着现场勘查人员勘查意识的增强，现场所提取到的接触性 DNA 检材的比例也在不断提高。接触性 DNA 是指通过皮肤接触而将 DNA 物质遗留在客体上形成的检材。重大案件中，接触性 DNA 检材已成为攻坚克难的利器，对于侵财类案件，此类检材也占极大比重。目前，对于微量 DNA 提取方法主要有直接提取法、真空吸附法、两步擦拭法、静电吸附法、胶粘法，如何针对不同案件中的不同载体，选择合适的初步提取方法，对后续是否能检出有效的基因分型有着重要的影响。

1 案例资料

1.1 贩毒案

2017 年 1 月 28 日，贵州省荔波县公安局民警在高速路出口抓获涉嫌贩卖毒品的黎某、何某。为了明确犯罪事实，办案民警将毒品包装袋及犯罪嫌疑人血样送至我实验室进行 DNA 检验。

针对此案件中的“毒品包装袋”检材，实验人员设计了三种提取方法：棉签干湿两部擦拭法、粘胶法、直接剪取法。由于毒品包装袋为塑料封口袋，故考虑袋口封口拉条处为嫌疑人直接接触部位，针对该部位，分区域使用上述三种方法提取检材，使用博坤 ML-超微磁珠试剂盒进行纯化，ID-Plus 试剂盒进行扩增，扩增产物经 3500XL 测序仪电泳后，分别得到如下图结果：

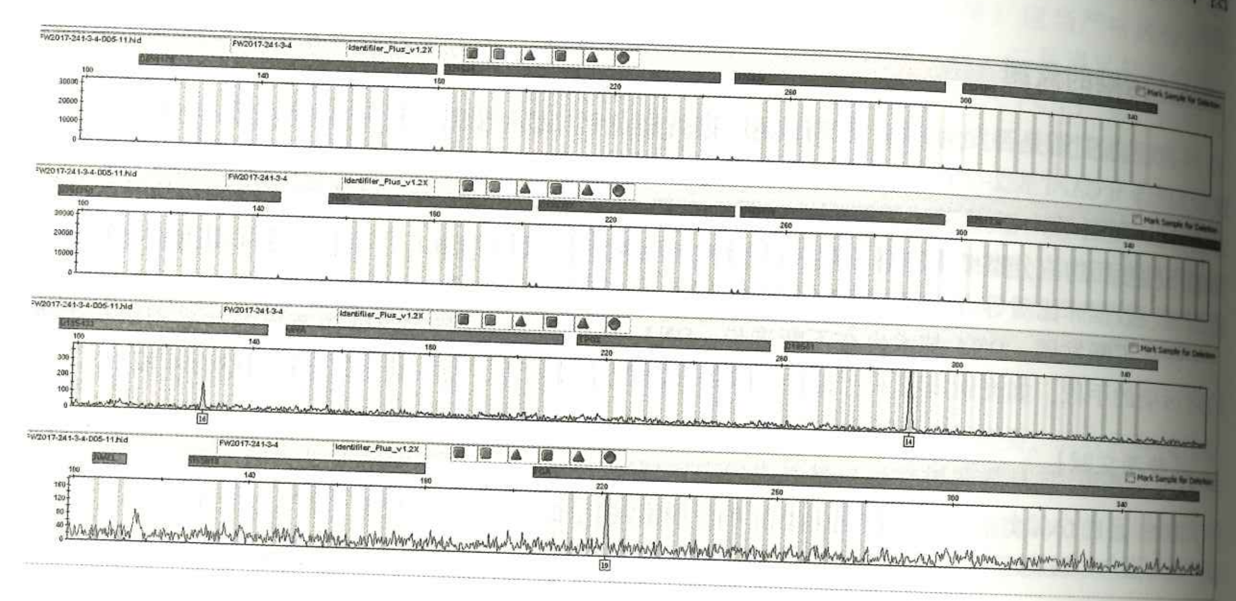


图 1 干湿两部擦拭法

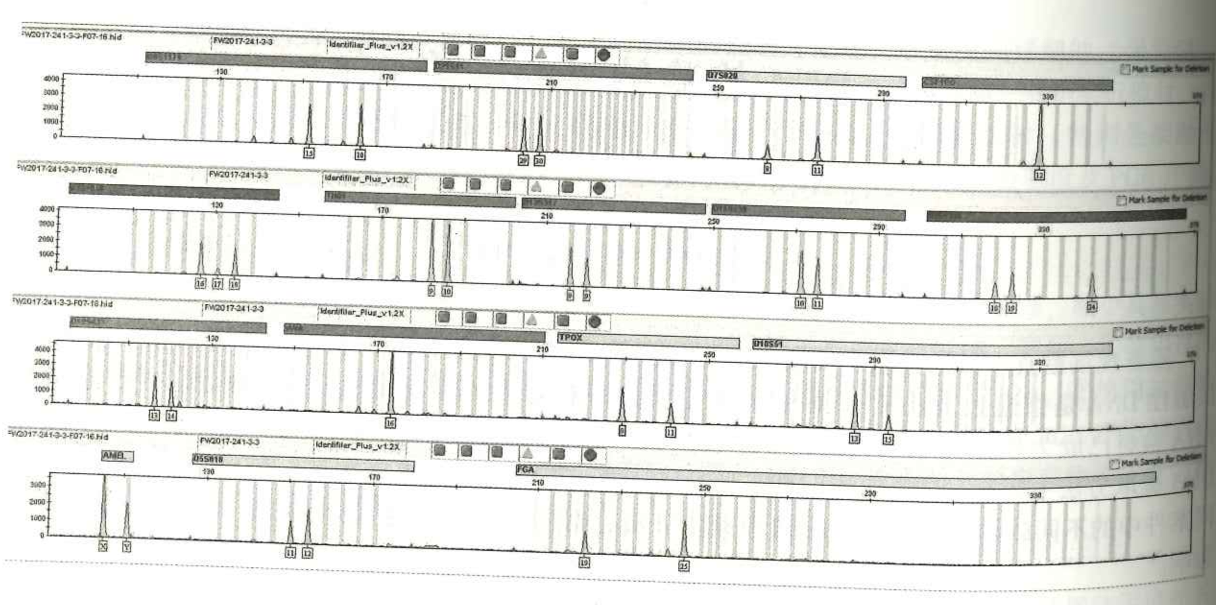


图 2 粘胶法

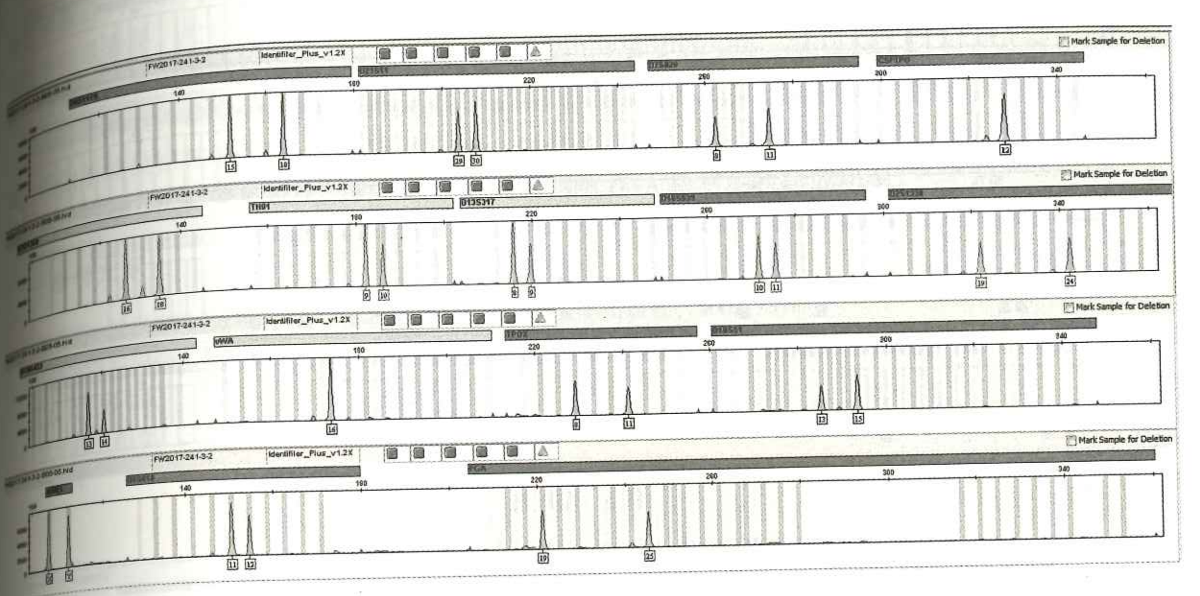


图 3 直接剪取法

从图中可发现，棉签干湿两部擦拭法未获得 STR 分型；粘胶法获得混合 STR 分型；直接剪取提取法获得有效 STR 分型，将该数据输入 DNA 数据库后，比中未抓获的犯罪嫌疑人田某。

1.2 抢劫案

2017 年 2 月 2 日受害人莫某在厕所被两名男性青年持刀抢劫，受害人钱包被翻动。办案民警将钱包及受害人血样送至我实验室进行 DNA 检验。

此案送检的“钱包”检材，由于是受害人日常所使用的物品，故受害人所遗留的 DNA 更为丰富，考虑犯罪嫌疑人翻动钱包可能触碰的部位，同样设计案例 1 所使用的三种提取方法及纯化方法，分别得到如下图结果：

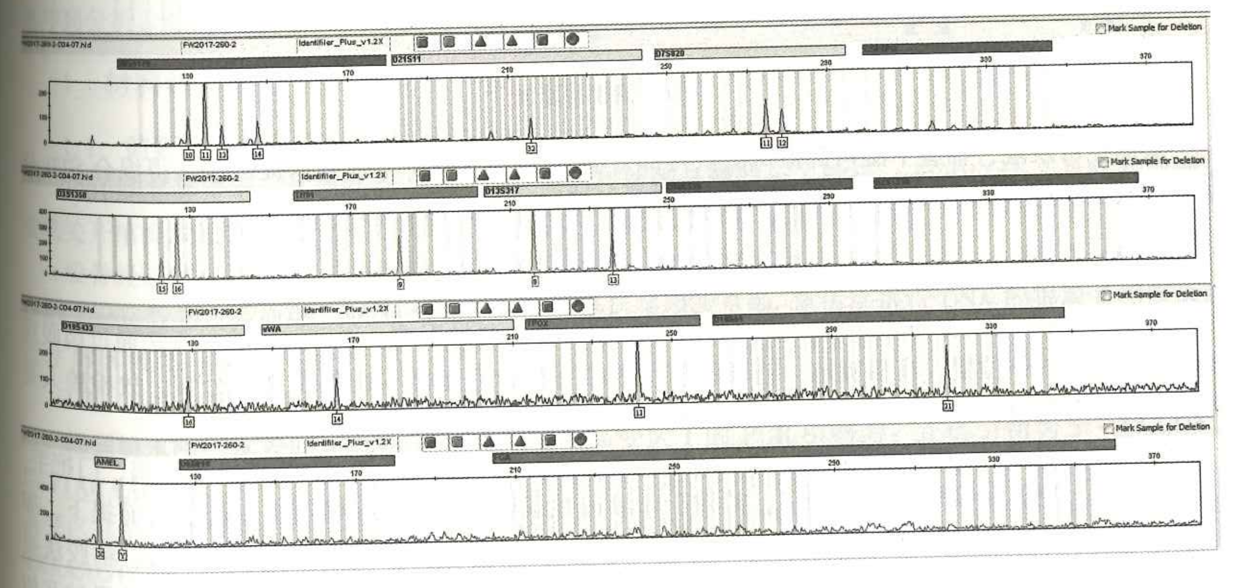


图 4 干湿两部擦拭法

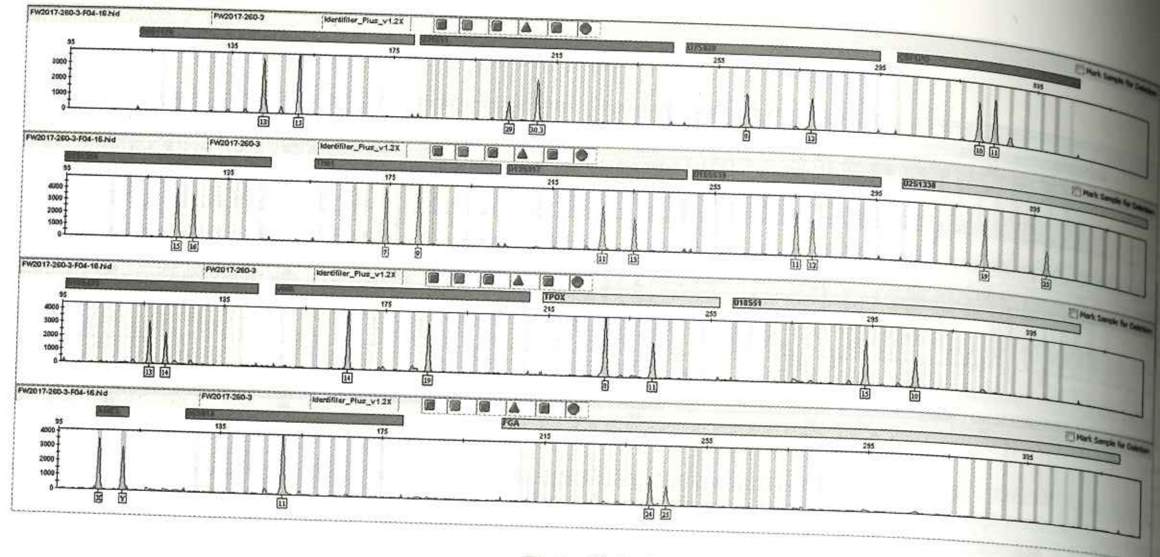


图 5　粘胶法

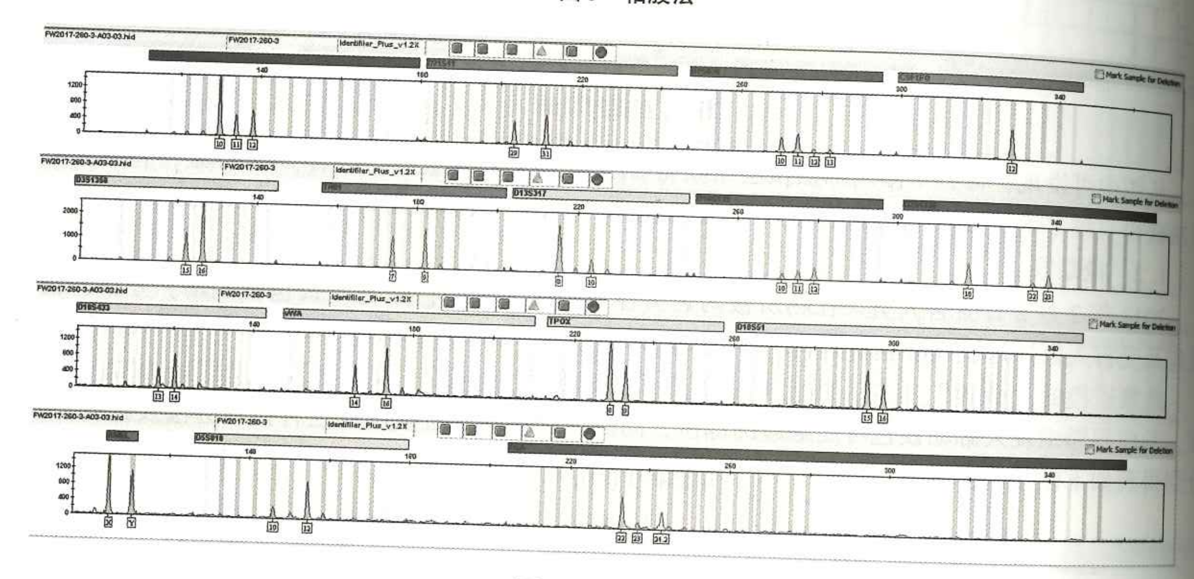


图 6　直接剪取法

从图中可发现，棉签干湿两部擦拭法获得部分混合 STR 分型；直接剪取提取法获得混合 STR 分型，粘胶法获得有效 STR 分型，将该数据输入 DNA 数据库后，比中嫌疑人王某。

2　讨论

接触性 DNA 类生物物证的转移特性对 DNA 检验有着重要的影响，由于该类检材无法通过肉眼观察细胞存在的具体位置，盲目提取，错误的使用提取方法，可能得不到有效 STR 分型，故检验人员需针对具体的案情，分析微量 DNA 可能遗留的部位，设计不同的提取方法转移物证。

（1）渗透性载体（如纱线手套、布片、棉质绳索、衣物等）比非渗透性载体（如玻璃、门把手、塑料薄膜等）更容易吸附和残留 DNA，故对于非渗透性载体的检材，在确定提取部位的前提下，加大提取面积，可以更有效地获得 DNA。此类检材，适合使用大面积直接剪取、真空吸附、粘胶法提取，但存在出现混合分型的风险，此时需注意检验结果的可重复性，及不同检材之间检验结果的互相印证，谨慎判读 DNA 分析结果。

（2）对于被不同人员前后不同时期接触过的载体（如案例 2 中的“钱包”，受害人长期使用，后

被犯罪嫌疑人翻动），所遗留的 DNA 物质会出现“分层”现象，最后接触的人员所遗留的 DNA，往往集中在最表层。此时使用粘胶法轻粘提取，可较好获得最后接触人员的 DNA 物质。如盲目使用其他方法提取，易出现混合分型，甚至由于优势扩增的原因，得不到犯罪嫌疑人的 STR 分型。

在日常的案件检验中，对不同的接触性 DNA 检材，通过提取方法的选择，可以获得更高的成功率。但由于此类检材的检验，影响因素较多，如个体差异、污染、不均衡扩增、等位基因的丢失等问题，对于提取方法，要更系统的研究应用，提高接触 DNA 检材的检出成功率。

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 北京；中国人民公安大学出版社，2002：31.
[2] 刘海渤. 冯保强，等. 三种提取接触性检材脱落表皮细胞 DNA 方法的实验研究［J］. 昆明医科大学学报，2012（12）：36-40.
[3] 党华伟，毛炯，王惠，等. 疑难生物检材法医 DNA 检验的现状与进展［J］. 法医学杂志，2012，28（2）：52-54.

mtDNA 高变区检测在陈旧性生物检材法医学鉴定中的应用

陈雪云，翟　滇，吴道来，陈立方，曾发明，程宝文
（云南省公安厅刑侦总队，650500）

常染色体 STR 遗传位点分析技术现已成为了一项成熟的法医学鉴定手段，为案件中需要进行的个人识别或亲缘鉴定提供了科学的依据。虽然此项技术在灵敏度和可靠性等方面均较 20 世纪 80 年代有了质的飞跃，但其在对陈旧性短片段生物检材的检测上仍有局限性。本文针对案件中未能扩增出有效常染色体 STR 产物的陈旧性检材，采用一代测序技术对陈旧性生物检材进行线粒体 DNA 高变区碱基序列分析，获得的 PCR 片段测序结果为样本间的亲缘关系提供了一定的证据。

1　材料和方法

1.1　简要案情及 DNA 的提取

2001 年某县发生一起强奸杀人案，现家属对尸体的身源产生了质疑，于 2017 年 3 月联系当地公安机关开棺提取股骨一根及唐某父母血样送我处，要求对尸体身源进行确定。

股骨经超纯水洗净后，表面呈红色，取适量骨片多次用乙醇浸没泡洗，骨片仍呈红色，晾干后用 Lyser Tissue 仪器进行研磨，取 3g 骨粉，脱脂脱钙后采用改良酚-氯仿法进行 DNA 的提取并用磁珠法进行 DNA 纯化。

1.2　PCR 扩增

根据姚永刚已发表的 mtDNA 高变区引物，高变区Ⅰ的 PCR 引物为：正链引物为 5′- CCCCAT-GCTTACAAGCAAGT-3′，反链引物为 5′-TGATTTCACGGAGGATGGTG-3′，扩增片段为 16209-16401；高变区Ⅱ的 PCR 引物为：正链引物为 5′-GGTCTATCACCCTATTAACCAC-3′，反链引物为 5′-CTGT-TAAAAGTGCATACCGCCA-3′，扩增片段为 29-408。24. 8μL 反应体系包括含镁离子 10×PCR 缓冲液 2. 5μL，5mmol/L dNTP 2μL，1μmol/L 正反向引物各 1μL，0. 3μL（5U/μL）Taq DNA 聚合酶（宝生物公司），2μL DNA（50ng/μL），余量用水补足。PCR 反应参数为：94℃ 5min →28 个循环（94℃ 30s →58℃ 30s →72℃ 1min）→72℃ 7min →4℃ ∞。PCR 反应在 AB 9700 扩增仪上进行。取

2.5μLPCR 产物用 1.5%的琼脂糖凝胶电泳，用 2.5 倍体积的无水乙醇沉淀 DNA，12000r/min 下离心 20min 后，弃上清并根据电泳条带浓度加入 20μL~50μL ATE 溶液溶解 DNA。

1.3 测序反应

测序反应按 ABI PRISM BigDyeV3.1 试剂盒的说明在 ABI 3100 DNA 基因分析仪进行。扩增体系为：正链引物 1μL，5×buffer 2.5μL，Bigdye 0.3μL，DNA 1μL，超纯水 5μL，共组成 9.8μL 体系。扩增片段 PCR 反应参数为：96℃ 2min →30 个循环（96℃ 10s →50℃ 5s →60℃ 2.5min）→60℃ 7min→4℃ ∞。扩增产物用 MultiScreen 96-Well Filtration Plates 板各孔加 5%的 G-50 溶液 300μL 进行纯化。用 DNA STAR 比对软件将各区域序列分别与校正剑桥序列作比较，发现并统计多态点。

2 结果

与剑桥 mtDNA 标准序列相比，送检股骨 15996-16401 区域有 16266 C→T，16362 T→C（见图 1~图 2）。股骨序列与唐某母亲一致。

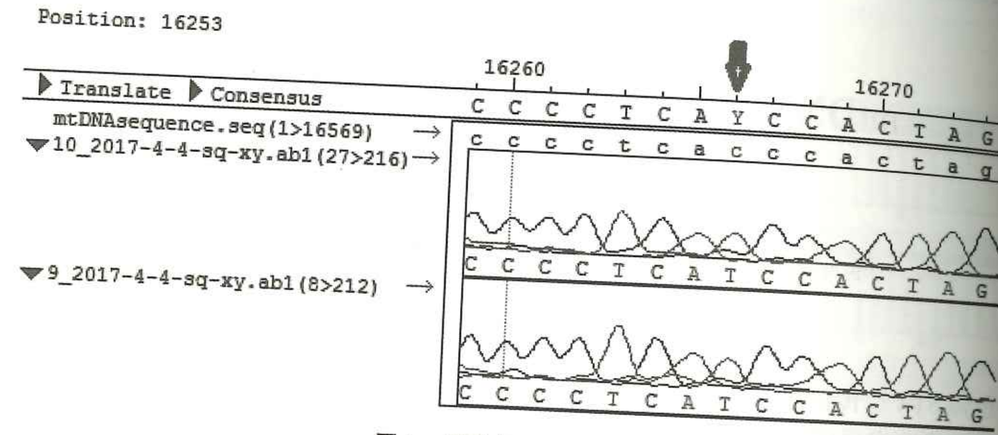


图 1 突变点 16266 C→T

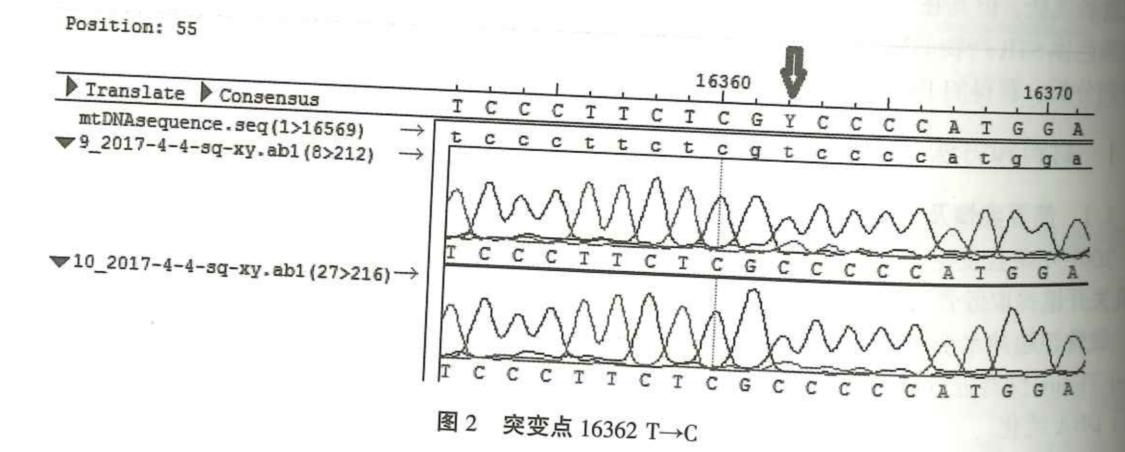


图 2 突变点 16362 T→C

3 讨论

近年来，随着 DNA 提取检验技术的提高，陈旧性生物检材检测的成功率有了很大的提高。本实验室曾检出了一例 120 余年的白骨常染色体 STR 分型，但根据陈旧性检材保存年限、环境等因素的不同，DNA 易降解成小片段，而对模板长度有一定要求的 STR 检测在此时便无能为力。

本案中，我们先后采用了博坤公司的磁珠法、QIAGEN 公司的硅膜法对脱脂脱钙后的骨粉进行了 DNA 的提取，并用 AB 公司的 Globalfiler 试剂盒进行常染色体 STR 扩增，均未得到阳性 DNA 产物。

该送检股骨埋藏时间不长，结构较完整，但仍无法得到阳性 DNA 产物，分析其原因，应与其埋藏地点以及股骨上浸润的红色色素有关。后对股骨的埋藏现场图片进行了仔细观察，猜测死者股骨上的红色色素来自于死者所穿的一件红色外衣。

线粒体呈闭合双链的环状结构，由一条重链（H 链）和一条轻链（L 链构成），长度为 16569bp，由 13 个多肽基因、2 个 rRNA 基因、22 个 tRNA 基因以及非编码区组成。人线粒体 DNA 的第一次测序是在 1981 年，并在 1999 年进行了再测。线粒体非编码区又被称为控制区，包含有突变率较高的两段高变区，一段为高变区Ⅰ（16024~16383 区域），另一段为高变区Ⅱ（57~372 区域）。胡盛平等在对 208 个河南人线粒体的高变区Ⅰ、Ⅱ分析后，发现了 166 个单碱基多态位点，其中有 115 个多态位点在高变区Ⅰ，51 个在高变区Ⅱ，共 179 个单倍型。而真核生物的每个细胞中都有 100 到 1000 个线粒体拷贝，且线粒体 DNA 呈环状结构，不易被降解，因此相比核 DNA，大量线粒体 DNA 在高度腐败、降解的陈旧性生物检材中更容易被保存。

经检测，股骨、唐某母亲线粒体 DNA 在 15996~16401 区域序列一致，与剑桥 mtDNA 标准序列在 16266、16362 位点不同，不排除该股骨与唐某母亲来自同一母系。

现 DNA 数据库多是对常染色体 STR 及 Y-STR 基因分型进行建库，但由于常染色体信息多局限于同一认定及两代至三代的亲缘关系鉴定，Y-STR 信息多适用于遵循父系遗传的家系识别，但这两种遗传位点的分析测定均对模板的质量有很高的要求，并不适用于陈旧性生物检材的检测。而线粒体 DNA 检测基于其高拷贝、高变区多态位点多、不易降解的特点，在陈旧性生物检材法医学鉴定中能弥补常染色体 STR 检测的不足，在个人识别和亲缘鉴定中均能起到一定的作用，从而为案件提供线索。另外，我们还能在建立线粒体 DNA 数据库的基础上，对不同区域的人群进行特征性划分，通过线粒体 DNA 数据分析推断人群来源，为不明身份的犯罪嫌疑人、未知名尸、战后遗体的身源进行大数据归类，获得身源信息。

【参考文献】

[1] 张玥，徐国昌，徐凯，等. 改良酚-氯仿法提取及不同试剂盒扩增检测陈旧性人骨 DNA［J］. 重庆医科大学学报，2015（8）：1134-1137.

[2] 赵斌，侯光伟，王有凤. 应用磁珠法提取陈旧骨骼 DNA［J］. 中国法医学杂志，2014（3）：253-254.

[3] 姚永刚. 中华民族源流探讨-线粒体 DNA 的研究［J］. 昆明：中科院昆明动物研究所，2002.

[4] Andrews R. M.，Kubacka I.，Chinnery P. F.，et al.. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA［J］. Nat Genet，1999，23（2）：147.

[5] Nicholls T. J.，Minczuk M.. In D-loop：40 years of mitochondrial 7S DNA［J］. Exp Gerontol，2014，56：175-181.

[6] Anderson S.，Bankier A. T.，Barrell B. G.，et al.. Sequence and organization of the human mitochondrial genome［J］. Nature，1981，290（5806）：457-465.

[7] Xu K.，Hu S.. Population data of mitochondrial DNA HVS-Ⅰ and HVS-Ⅱ sequences for 208 Henan Han Chinese［J］. Leg Med（Tokyo），2015，17（4）：287-294.

[8] Bekaert B.，Larmuseau M. H.，Vanhove M. P.，et al.. Automated DNA extraction of single dog hairs without roots for mitochondrial DNA analysis［J］. Forensic Sci Int Genet，2012，6（2）：277-281.

DNA 比对在侦查应用中遇到的问题与对策

苏世达[1]，杨元青[1]，李　安[1]，余建华[1]，黄　磊[1]，
向超杰[1]，范豫杰[1]，席琍文[1]，罗曼菡[1]，李　貌[2]
（1. 云南省昆明市公安局刑事科学技术研究所，650233；2. 云南省公安厅交警总队，560000）

DNA 比对应用就是将案件现场物证通过 DNA 技术手段，获得检验结果与数据库信息进行比对，达到以物找人、以物找物、以人找人、以人找物的作用，为侦查、诉讼提供有力的手段。尤其是 DNA 技术手段在侦查、诉讼中所发挥作用凸显。结合近年来对侦查应用中遇到的问题，通过具体案例展现给同行，促使我们认真总结，并提出解决问题的对策，更好地促进侦查工作。

1　DNA 比对在侦查应用中遇到的问题及影响后果

1.1　因双胞胎引发的问题

案例 1：某县发生一起盗窃案件，现场遗留烟蒂，经 DNA 比对与某某嫌疑人相同。经查此人属在押人员，应存在双胞胎极大可能。经查，该人另有一双胞胎兄弟，破案证实该在押人员的双胞胎兄弟为此案的嫌疑人。若本案某某嫌疑人不属在押人员，办案单位通过信息比对结果，不对嫌疑人作案时间、动机、轨迹等全面调查就预警布控，有可能发生错抓、错诉、错判等情况。

1.2　在生物学性别中遇到的问题

案例 2：某区发生一起刑事案件，现场内裤经 DNA 检验，性别位点为 X，工作中未查到案中的嫌疑女性人员，破案后查到一男性人员，经 DNA 比对，物证的 DNA 与该男性相同，该男性的 DNA 性别位点为 X。如果忽视生物学性别特殊性的一面，在排查犯罪嫌疑人时，容易出现人员性别方向性的错误。破案证实现场物证就是该社会学男性所留。

案例 3：某县发生的一起性侵犯案件，案中涉及现场衣物上遗留斑迹检材检出的性别位点为 X/Y，该检材与嫌疑男子未比中，未采集送检受害人（女性）血样。经办人员认为，只要作出男性 DNA 就可与嫌疑对象比对，无须采集送检受害女性 DNA 样本。后补送受害人 DNA 样本与现场衣物上遗留斑迹检材 STR 分型相同。经查，该受害人的生物学性别位点为 X/Y，受害人社会学女性的生物学性别，偶有因连锁遗传会出现 X/Y 可能。在性侵犯案件中，应当提供受害人（女性）的生物样本进行比对，不要认为只要在受害女性身上检出性别位点为 X/Y 的 DNA 成分，就是男性个体所留，无需采集送检受害人（女性）的比对样本进行甄别。

1.3　影响 DNA 分型差异情形的问题

案例 4：在一起亲缘关系鉴定中，父母供体的 DNA 与子女 DNA 不符合孟德尔遗传规律。经查，供体近期有骨髓移植史，在近期存在骨髓移植情形，其 DNA 分型结果出现不同。对案件犯罪嫌疑人与现场物证进行同一认定或亲缘关系认定时，当出现与实际情况不符时，要注意所述特殊情形。

1.4　在近亲关系中进行亲缘关系鉴定，特别是单亲关系鉴定遇到的问题

案例 4：在 DNA 比对时，呈现两个亲兄弟的 DNA 分型在 14 个基因座上基因型相同，全部 21 个基因座上的基因分型符合孟德尔遗传规律。经查，该两个体为同胞兄弟（非双胞胎）。当人员样本二者间出现 DNA 等位基因相互匹配的情况时，不能简单给出符合单亲遗传关系的鉴定意见，只能给出不排除二者间符合生物学遗传关系的鉴定意见。若忽视上述情况，特别是父子间或兄弟间在案事件中失踪的亲缘关系判定中的鉴定意见，解读鉴定意见时容易出现错判认定的情况。在数据库信息化应用

中，不同检测试剂盒间出现交叉相同基因座时，若不进行复核检验，避免试剂盒不同，特别是以人找物，或者以物找人的比对认定的方式，因出现交叉相同，容易导致比对结果的误判。

1.5　在解读 DNA 亲缘关系鉴定意见时遇到的问题

案例 5：在一起亲缘关系鉴定中，某死者与疑似随机父母符合孟德尔遗传规律，从案情介绍，该父母并未反映出失踪人员信息，但实际上的亲缘关系鉴定，该死者应是该父母所生子女，而非某某失踪人员。经查，该父母所生子女中，还有 1 位是办案人员未掌握的其子女，在其户口本上也无身份信息登记，若其中 1 名子女失踪，尚未掌握的生物学子女数量，在无法了解掌握其生育史的情况下，容易将还未掌握的其生物学子女或现场死者，误认为是某某失踪人员。

1.6　对出现 1 个、2 个不匹配的三联体亲缘关系判定中遇到的问题

案例 6：在办理一起案件中，对现场人体组织块经 DNA 比对，与省外数据库中的两家失踪亲属父母或配偶子女，在 15 个基因座上，除一个基因座外，与一个三联体亲缘关系不匹配外，其余 14 个基因座均匹配。经查，上述两家的失踪人员已找到。在亲缘关系鉴定时，若忽视不匹配的基因座，直接给出认定的意见，就容易发生错判的可能，即是原认定的死者或失踪人员，今后存在现身的可能。

1.7　因信息化数据库的数据出现录入人员信息错误与原始信息变更遇到的问题

案例 7：某案件中，现场物证 DNA 比中犯罪嫌疑人，依此信息查，该人不具备作案时间和条件。其容易出现两种错误情况：一种情况是录入信息有误，将错就错开展工作；另一种情况就是将使用未变更前的信息去开展侦查工作，导致侦查错控错抓。

1.8　数据库原建库样本与实际可能嫌疑人样本不一致性的问题

案例 8：在 DNA 信息化应用中，有时需要出具原数据库信息比对的鉴定文书，委托单位为图省事，个别委托单位用原建库样本进行比对，导致检验后的结果与实际抓获的犯罪嫌疑人不相同的情况。

1.9　在案件侦查中，涉及性犯罪案件，因漏排性伴侣引发的问题

案例 9：一起性犯罪案件中，在受害人内裤上获得混合的 DNA 样本，经数据库比对，该混合样本中含有一个数年前的一起刑事案件中犯罪嫌疑人分型。经查该犯罪嫌疑人为本案受害人的男朋友。在该类案件中，容易忽视和疏漏对类似性伴侣的排查。

2　DNA 比对在侦查应用中遇到问题的原因分析

上述案例中遇到的问题，主要存在以下原因：

其一是 DNA 比对有待完善。DAN 技术手段与侦查工作应用，反映出其技术自身局限性。DNA 信息化应用中其工作流程，都是按照一般性去操作，没有将技术的局限性和上述特殊情形纳入范畴。其二是形而上学的工作方法所致。在侦查工作中，存在以 DNA 比对检验结果定乾坤的绝对化现象。其三是工作“半落实”现象的影响。数据库的数据出现录入信息错误或原始信息变更后未更正或更正不及时情形，还有就是数据库原建库样本在采集样本环节中出现错误等工作不细致深入的表现。其四是侦查工作队伍素质有待提高。有的侦查民警认为刑事技术知识是刑事技术民警的事，机械地按领导安排干，个别刑事技术侦查民警，还存在人在岗位心不在的现象及业务不精。

3　解决 DNA 比对在侦查应用中遇到问题的对策

3.1　增强求实精神是解决 DNA 比对在侦查应用中问题的极其重要的一环

一是涉及比中的人员，应有双胞胎意识。根据 DNA 检验结果，使办案人员拓宽到双胞胎人员的意识，进一步调查对应人员的家族史及家庭成员关系。对比中的人员落实案前调查尤为重要，从而可以避免错抓、错押，甚至错案。二是在排查人员时，应树立被调查对象的社会学、生物学性别的意

识。一般来讲，社会学与生物学性别是统一的，即是男性个体为 X/Y，女性个体为 X。办案单位更多关注 DNA 的是社会学性别，当出现社会学与生物学性别不一致的情形时，更要引起注意。包括整形美容、两性人员等在办案中应引起注意。性犯罪的案件，均应采集受害人（男性或女性）的 DNA 样本加以比对，必要时进行 Y STR 或线粒体 DNA 检测加以印证。三是注意人员样本中 DNA 变异特殊情况的因素。在 DNA 比对时，一般采集人员的血样进行比对。对有近期输血、骨髓移植、癌症突变个体、葡萄胎等因素，可能会影响到供体 DNA 分型的差异，出现与实际不相符时，要考虑人员 DNA 变异的特殊情况。采样单位要注意了解被采集个体等上述情形，活体采集口腔拭子尸体可取样肋软骨或牙齿等备检。四是注意 DNA 鉴定结果的正确解读。正确解读鉴定 DNA 鉴定意见的实际意义，要考虑其科学理论的局限性。在亲缘鉴定中，涉及父-子-母或配偶-子女-配偶三联体中，所给出排除（或不是的）意见是肯定的，在 DNA 遗传关系确定上只能确定是子女或父母，但它并不能完全具体到是谁？比如，××个体应是××与××的生物学子女，但不能说××是××失踪人员，需要综合调查，才能判定。在鉴定中，当出现一个基因座不符合孟德尔遗传规律时，应进一步验证，并增加基因座。若增加基因座后，仍不能排除的，应给出不排除的鉴定意见。若增加基因座后，符合排除条件的，给出排除（不是）亲缘关系的意见，从而避免上述案例出现的错判可能与风险。五是在信息化应用比中，特别要落实核查工作。因流程环节过程多等因素，工作人员责任心、能力、技术手段、方法、管理等因素，容易出现差错。所以，比中结果只是数据库的一个信息化的盲比结果，必须要通过原始数据信息的再次复核确认。

3.2 完善 DNA 比对

针对技术自身的局限性和特殊性，应当将这两个属性纳入 DNA 比对中，加以注意，真正实现将其普遍性和特殊性有机结合，确保比中工作的全面系统化，避免工作差错，对一些好的做法纳入 DNA 比对机制中，有利于实战性。

3.3 优化侦查工作队伍

对公安民警进行专业培训，真正使全体侦查民警做到懂得基本的刑事技术知识，能运用 DNA 比对取得侦查实效。对刑事技术民警，做好思想稳定工作，对不适宜做刑事技术工作的民警要坚决调换。

【参考文献】

[1] 侯一平，丛斌，王保捷，等. 法医物证学 [M]. 北京：人民卫生出版社，2016：257.

[2] 刘烁. 叶健. 法医遗传学应用与展望（第四届全国法医 DNA 检验技术研讨会暨 2012 法医遗传学新进展国际研讨会论文选 [C]. 余建华、向超杰、范豫杰，等. 同胞两兄弟 14 个基因座等位基因相同一例，2012：488.

Y-STR 家系排查在基层实战中的几点思考

柴家建，谢红良

（云南省曲靖市公安局刑侦支队，655000）

Y-STR 检测技术是法医学个体识别和父权鉴定的一种重要手段，是常染色体 STR 和 mtDNA 遗传标记技术的必要补充，随着高效、便捷 Y-STR 商业试剂盒的研发，使其广泛应用于 Y-STR 家系排查法缩小案件侦查范围，目前已运用得非常成熟。但基层实战中如不注意原则、方法，滥用 Y-STR 技术会造成人力、财力上的浪费，且贻误战机。以下通过发生在我市的几起代表性案例，总结运用 Y-STR 技术排查在基层实战中的一些思考，希望可供各位同仁借鉴。

1 案例资料

案例 1：2016 年 3 月 14 日，会泽县者海镇一对麻风病母子高某、王某被发现系钝器打击头部致死在家中。勘验现场后提取相关检材检验鉴定，在中心现场电灯开关上检出一混有被害人母子和另一男性的混合 DNA 分型。结合案情综合分析：该案系熟人图财作案，具备 Y-STR 家系排查条件。故把主要精力押在 DNA 技术上，投入大量人力、物力开展 Y-STR 家系排查工作，案发后一周仍未能破案。后从勘验源头倒查，查明主要检材系勘验人员更换手套时不慎污染。经专案组调整工作思路后，运用其他侦查方法得以破案。

案例 2：2011 年 3 月 18 日，宣威市东山镇徐某（女，48 岁，女村干部，离异多年未再婚）被发现系机械性窒息死亡在家中。提取死者阴道擦拭物后检出一男性 DNA 分型，且该村极其偏僻，具备开展 Y-STR 家系排查条件。遂在案发地周围 5 个自然村内 36 个家族中进行 Y-STR 家系排查。结果闵氏家族其中 1 个分支的 Y-STR 分型与死者阴道擦拭物在 2 个 Y-STR 位点上存在近似，经排查本地常住人员不具备作案时空条件，故把该线索暂时搁置。调查数周后发现，该支系有一名在外地工作的公务员可能有作案嫌疑，通过 STR 分型认定闵某为该检材的留下者，与死者有染但不是真凶。经其他侦查方法工作后案件告破，该案系经济纠纷引发的雇凶杀人案。

案例 3：2014 年 10 月至 11 月夜里，宣威市阿都乡陆某（女，63 岁，寡居多年）在家中三次被人蒙面强奸，动机极其变态，受害人无法对犯罪嫌疑人体貌特征进行细致描述。经 DNA 检验鉴定，三次提取的阴道擦拭物为同一 STR 分型，该地极其边远闭塞。遂对案发地周围 7 个自然村内 44 个家族进行 Y-STR 分型排查，没有任何 Y-STR 家系分型与犯罪嫌疑人分型近似。后在走访中有一名八十多岁的老人溯源海姓家族时提及，海姓一小分支中的海某新中国成立从贵州领养而来，已七十有余，现身体还很硬朗。经检验鉴定，认定海某为此案犯罪嫌疑人。

案例 4：2015 年罗平县油菜花旅游节期间，多依河景区油菜花田边发生系列抢劫强奸外地女性游客的案件，社会影响极其恶劣。经现场检材比对后确定该系列案为同一犯罪嫌疑人所为，但此人具有较强的反侦察能力，一直未能破案。数月后在滇黔桂三省刑侦工作联席会议上，我方通报该系列案件后，毗邻罗平县的广西壮族自治区西林县公安局侦查员认为该系列案件与其辖区普合苗族乡一起强奸案可能有关联。因犯罪嫌疑人的体貌特征及其作案手法很相似，经比对 Y-STR 分型一致。于是两地公安机关合力在西林县普合苗族乡境内通过 Y-STR 家系排查破获该案，抓获犯罪嫌疑人覃某。

2 讨论

2.1 运用的优势

Y 染色体属于人类的性染色体，只有正常男性拥有，女性没有。基层实战中，其运用的优势往往在人口流动性较小的特定区域内，遇到有完整 STR 分型，但寻找犯罪嫌疑人如大海捞针时；无完整 STR 分型，利用常染色体检验过程中的优势扩增原理，女性成分污染了检材，混合血样、唾液斑、精斑、微量生物检材中女性成分过多无法完全去除，获得的图谱是混合的情况时。灵活、大胆使用 Y-STR 检验对于判定作案人数、分析侦查范围、串并案件、获得作案人信息、缩小案件侦查范围在案件侦破中能起到关键作用。研究表明混合斑中男女比例达 1：400 甚至 1：2000 时，依然可获得样品中男性个体的 Y-STR 分型。

2.2 运用的条件

首先定性一定要准确，应用 Y-STR 家系排查法案件必须是男性犯罪案件，并且犯罪现场可能遗留与案件有密切联系的男性犯罪嫌疑人的生物物证，能得到完整的 Y-STR 分型，可排除污染等外源性干扰因素，具有认定或排查犯罪嫌疑人的价值。其次 Y-STR 家系排查法多应用于农村地区为主，特别是以家族式群居的自然村落，此类地区相对偏僻，人员流动小、父姓家系聚集、民风淳朴遗传关

系稳定。（案例1的教训就是在没有排除外源性干扰的情况下错误定性，开展排查。）

2.3 运用的局限

局限于不能进行同一认定，Y-STR的高突变率，是普遍存在的遗传现象。因此，Y-STR在家系遗传中也可能变异，在实际应用中应加以注意：在发生突变时，要观察突变基因座的片段大小，如其分型片段大小接近，不一致位点偏离度小的情况下理应重点排查，说明他们的亲缘关系（同一父系）也接近，则应为案件侦破中的摸排重点。认定或排除嫌疑，最终还得靠常染色体STR技术，所以说Y-STR检验技术是常染色体STR技术的有力补充，是侦破中一种重要的辅助技术手段。KAYSER（2001）报道，4999例，父子间存在1个Y-STR分型突变率在0.28%。KAYSER（2001）曾报道，在4999例已通过DNA分析证实亲子关系的父子中，发现父子间存在1个Y-STR分型突变率在2.8‰，有2对父子存在2个Y-STR的变异。（案例2就是在有变异的情况下搁置重要线索。）

2.4 组织实施及注意

Y-STR家系排查需多警种的协作，要有统一的指挥，一定要根据现场勘查情况，结合案情调查，确定案件是否为本地人作案，可能的重点区域和调查后的村落，案发地周围重点排查区域的划定是非常重要的一环，家系图谱绘制是关键，不能盲目的以姓氏作构，应了解各村落的家系分布、遗传及关联，并制作家系遗传方框图，每四～五代，选取一到两名作为代表，采集DNA样本；根据Y-STR检测结果，进行比对，嫌疑家系及溯源嫌疑家系查找中，要进行Y-STR分型分析、家系遗传图谱对照及案件调查的结合对家系溯源，在筛查时横向采血法或锁定时的纵向采血法相结合；另外，在家系溯源时，还要注意核对家谱，结合调查走访，收养、过继、随母姓、倒插门等家系改变，要单列出其家系遗传图谱及Y-STR分型，以加以排除或进一步肯定；对采样人员进行适当培训，做到采样时防控污染，不扰民、配合采样，在家族中进行Y-STR检测，触及族群隐私的，应当保密；物证对应的是人的Y-STR分型，而不是案件真凶，不可以粗暴定性，一定要结合调查走访。（案例3就是采样时的疏忽造成贻误战机，即使找到了一致Y-STR分型，仍然只是参考，切忌粗暴定性，例如案例2。）

2.5 完善Y-STR数据库的紧迫性

近年来，许多地区开展了大量Y-STR排查工作，破获了大批有影响的各类案件，也获得了大量的Y-STR数据，但是停留于基层部门各自为战，这些信息一定程度上是零散的，长期处于一种人工筛选的被动侦查模式。现在Y-STR数据存储、查询比对、信息共享都成了急需解决的问题，建设强大而完备的Y-STR数据库来解决数据的共享迫在眉睫。（案例4就是在跨区域的情况下Y-STR数据库建设不完善导致的。）

【参考文献】

[1] 郑秀芬. 法医DNA分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2002：300-312.
[2] Oohn M. Butler. 法医DNA分型：STR遗传标记的生物学、方法学及遗传学［M］. 侯一平，刘雅诚主译. 北京：科学出版社，2007：149-155.
[3] M. asyer，A. Sajantila. Mutation at Y-STR loci：implications for paternity testing and forensic analysis. Forensic Science International［J］. 2001，118：116-121.

运用DNA数据库排查未知名尸体尸源的启示

郑和成，刘程静，李进成
（云南省楚雄州公安局，675000）

1 简要案情

2016年5月，某县郊区河里发现一具未知名尸体，男性，全身赤裸，已高度腐败，经现场勘验和尸体检验，认定为他杀后抛尸。显而易见查找尸源成为侦破此案的切入口。办案民警经过近半个月的调查走访，依然没有发现有价值的线索。与此同时我实验室对死者检材提取后采用Identifiler plus Kit试剂盒扩增检验得到DNA分型，我们将分型录入DNA数据库先进行同一比对，没有比中结果，随后与失踪人员亲属进行亲缘比对，也一一排除，最后将分型与本地库的前科人员进行亲缘单亲比对，结果比中有半对容差及无容差的样本共计13份，通过将这13份的样本及未知名尸体检材进行PowerPlex 21试剂盒扩增检验，排除11人，有2人无法排除，我们将这两人血样及未知名尸体检材进行Y-filer试剂盒扩增检验，其中1人的Y-STR与未知名尸体的一致。随即采集该违法人员及其前妻血样进行亲缘鉴定，得出该未知名尸体应是该违法人员的生物学儿子的结论，后又采集该违法人员的失踪儿子使用过的牙刷进行DNA检验比对，其DNA分型与未知名尸体一致，最终认定该尸源从而破获此案。

2 讨论

随着社会的发展，流动人口大幅度增加，未知名尸体每年随之递增，查找未知名尸体尸源是公安机关的一项职责，也是一大难题，特别是涉及命案的未知名尸体、尸块，认定死者身份对侦破工作起到至关重要的作用。随着DNA检验技术的快速发展和DNA数据库的进一步建设，DNA数据库在未知名尸体尸源查找工作中发挥了其他手段不可替代的作用。

利用DNA数据库查找未知名尸体尸源主要依靠同一比对和亲缘比对。同一比对主要有未知名尸体与人员样本的同一比对、未知名尸体与现场物证的同一比对及未知名尸体与失踪人员物品上遗留的DNA同一比对三种方式。未知名尸体的亲缘比对主要是未知名尸体与失踪人员亲属比对、未知名尸体与前科人员在内的其他人员样本进行比对，比对方式主要有三联体比对和单亲比对。同一比对模式和亲缘比对模式的比较如下表：

比对模式	优点	缺点	存在风险
同一比对	①比对简单、快捷 ②似然比率大，易进行认定和排除	①比中概率小 ②人员样本采集率低 ③失踪人员遗留物品上生物检材采集率和检出率低 ④遗留现场生物检材的个体未知	①在有骨髓移植、同卵双生的情况下可能出现有误 ②失踪人员遗留物品上生物检材来源不可靠

续表

比对模式	优点	缺点	存在风险
亲缘比对	比中概率大，能进行较大范围的排查	①各地使用试剂盒差异大，基因座不同，核心基因座少，比中后似然比率小，不易进行认定和排除 ②数据库中 Y-STR 染色体模块暂未引入，不利于认定和排除 ③未知名尸体与违法犯罪人员一般为单亲比中，需进一步认定和排除	基因突变、试剂盒设计差异[1]等情况下会出现错误排除

备注：试剂盒设计差异[1]——《生物技术世界》ISSN1674—2060 中《扩增试剂盒差异致 TH01 基因座分型结果不同 1 例》，第 84 页。

通过利用 DNA 数据库成功排查本案未知名尸体尸源及日常 DNA 数据库的运用，笔者得出以下几点启示：

第一，在 DNA 数据库的建设中应增加 STR 核心基因座的数量。目前，DNA 技术的快速发展，具有较多基因座的复合扩增试剂盒研发并投入使用，在扩增试剂国产化后使得扩增试剂盒在价格上有所下降，实现增加一定数量 STR 核心基因座是可以现实的。现在 DNA 数据库建设的核心基因座量少（见《法庭科学 DNA 数据库建设规范》GB/T 21679—2008），由于使用的试剂盒不同、部分检材因条件限制和基因突变等因素，使一些检材进行亲缘比对比中率很高，但难以认定或排除，因此增加 STR 核心基因座数量有利于亲缘比对中的认定和排除。

第二，在 DNA 数据库的建设中新增 Y-STR 基因座模块。在 DNA 数据库中有很多亲缘比中的通报，这些比中通报很多难以核实和处理，在 DNA 数据库中新增 Y-STR 基因座模块，利用 Y-STR 就可以帮助解决这些比中通报。在利用 DNA 数据库对未知名尸体进行亲缘比对时，增加 Y-STR 基因座模块有利于男性未知名尸体认定和排除。

第三，同时加强失踪人员库和失踪人员亲属库的建设有利于未知名尸体的比中。排查未知名尸体尸源，失踪人员是重点的目标人群，所以在处理失踪案件时应尽量提取可供同一比对的生物检材，录入失踪人员库，同时采集失踪人员亲属样本录入失踪人员亲属库，对于单亲比中或基因突变的情况，同一比中还可起到相互印证的作用。在 DNA 数据库比对中，同一比对的似然比率远远高于亲缘比对，容易认定或排除，加之目前纯化方法增多，试剂盒扩增效率升高，测序仪灵敏度提高，能够提高脱落细胞、陈旧检材等的检出率，因此提取失踪人员失踪前的生物检材进行 DNA 检验入库是重要的方法。但提取检材时要注意甄别，应提取属于失踪人员固定专用的生物检材如牙刷、梳子、水杯、衣物等，并将该生物检材与可能使用过的相关人员进行排除及与亲属进行亲缘关系比对，符合亲缘关系后才能作为失踪人员样本被采集入库。同时应采集失踪人员亲属血样入库，最好实现三联体的亲缘入库比对，因三联体亲缘比对似然比率又高于单亲比对。此外，尽可能详尽的询问失踪人员的失踪时间、地点，利用 DNA 数据库查找尸源时可以针对性的选择区域进行比对，提高比中效率。

第四，在 DNA 数据库设置比对参数或手工比对时，至少要设置有 1~2 个容差。由于不同实验室所使用的试剂盒不同，不同试剂盒在部分基因座设计中可能存在差异，会出现个别杂合子误判为纯合子的情况；此外在亲子鉴定中也经常会出现基因突变的情况以及极少数未知名尸体检材在检验中由于浓度、杂峰等因素可能对个别基因座出现误判的情况。由于以上因素会让未知名尸体在数据库无容差亲缘比对时无法正确比中。因此在 DNA 数据库设置比对参数或手工比对时应设置 1~2 个容差，避免错误排除。

第五，存在难以认定和排除的案件，应增加其他遗传标记及结合侦查员的调查。在单亲比中和可能存在基因突变的案件中，如果用常规的 20 个左右基因座都难以排除的情况下，可考虑采用更多基因座的试剂盒进行检验，常规的 20 个左右基因座试剂盒联合使用 AGCU21+1STR 等试剂盒，可以将基因座数量增加到 40 个以上，也可以采用增加 X-STR 和线粒体等遗传标记的方法，同时结合侦查员调查走访的相关信息，有效帮助认定或排除。

【参考文献】

[1] 陈阳，许建明，聂爱婷，等. 扩增试剂盒差异致 TH01 基因座分型结果不同 1 例［J］. 生物技术世界，2016（6）：84.

[2] 侯一平. 法医物证学（第四版）［J］. 2016（3）：257-263.

[3] 郑和成，黄友浩. 浅析造血干细胞移植对“公安机关 DNA 数据库应用系统”的影响［J］. DNA 数据库建设应用成果与展望 IV，2015：208-210.

一例单亲亲缘关系鉴定的分析

郭　伟，万轶飞，顾章鸿

（陕西省渭南市公安局，714000）

1　案件资料

1.1　简要案情

2016 年 2 月 8 日，我市一加油站南侧约 100 米处发现一高度腐败的未知名男尸。工作后发现该男子疑似为失踪人员常某，因其配偶已去世多年，故提取死者肋软骨及常某大女儿血样，送 DNA 实验室进行尸源认定。后因案件需要，再次对常某的二女儿、三女儿、小儿子血样进行采集、送检。

1.2　DNA 检验

对 5 份样本先后采用 Chelex-100 法提取样本 DNA，应用 Identifiler Plus 系统，经 PCR 复合扩增 STR 基因座；扩增产物经 ABI-3130 型 DNA 序列分析仪电泳分离和激光扫描分析，得到上述检材的 STR 分型结果。

1.3　检验结果

5 份样本均检出完整基因分型（见图 1~图 5），采用亲子鉴定非父排除概率计算公式：$PE=\sum p_i\ (1-p_i)^2-1/2\ [\sum\sum p_i^2p_j^2\ (4-3p_i-3p_j)\ ]$，计算得出相对应的父权指数及相对亲权机会如下：

大女儿亲缘关系计算结果：567.80329149　相对亲权机会为 99.8241922972386016%

二女儿亲缘关系计算结果：2372.65795857 相对亲权机会为 99.9578709309659219%

三女儿亲缘关系计算结果：26298.12389149 相对亲权机会为 99.9961975919649422%

小儿子亲缘关系计算结果：5637.02167221 相对亲权机会为 99.9822632820847734%

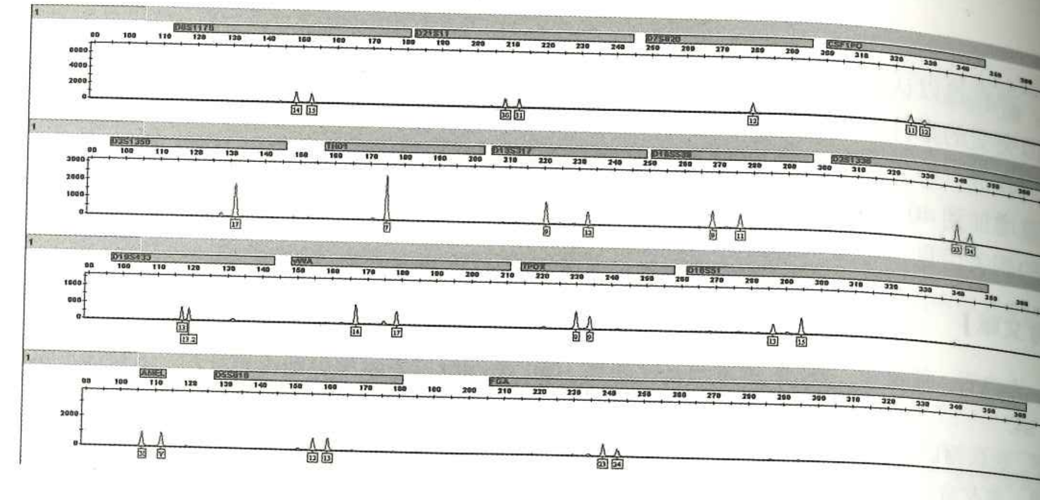


图 1　常某血样 STR 分型结果

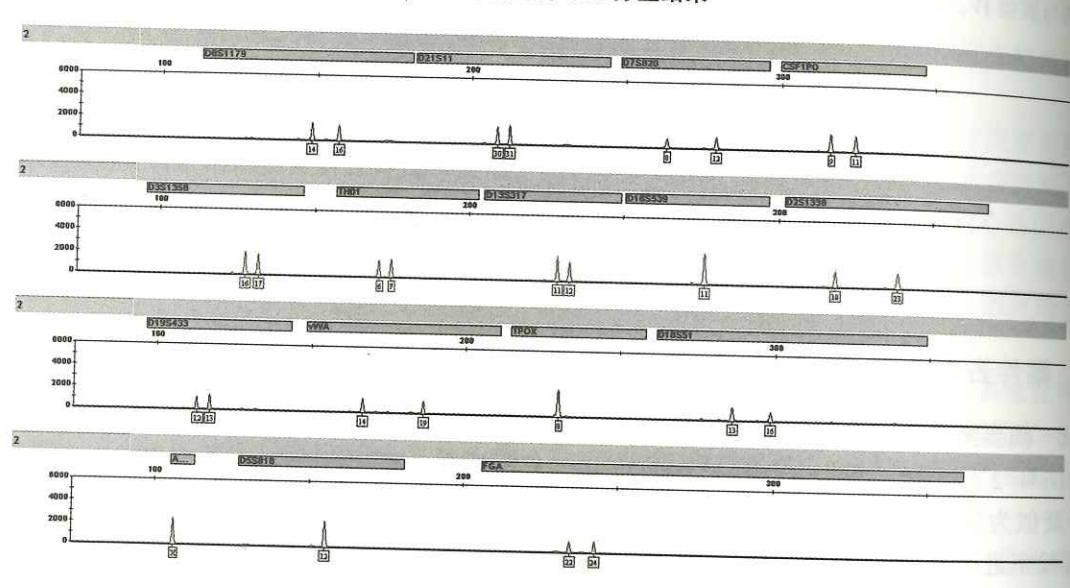


图 2　大女儿血样 STR 分型结果

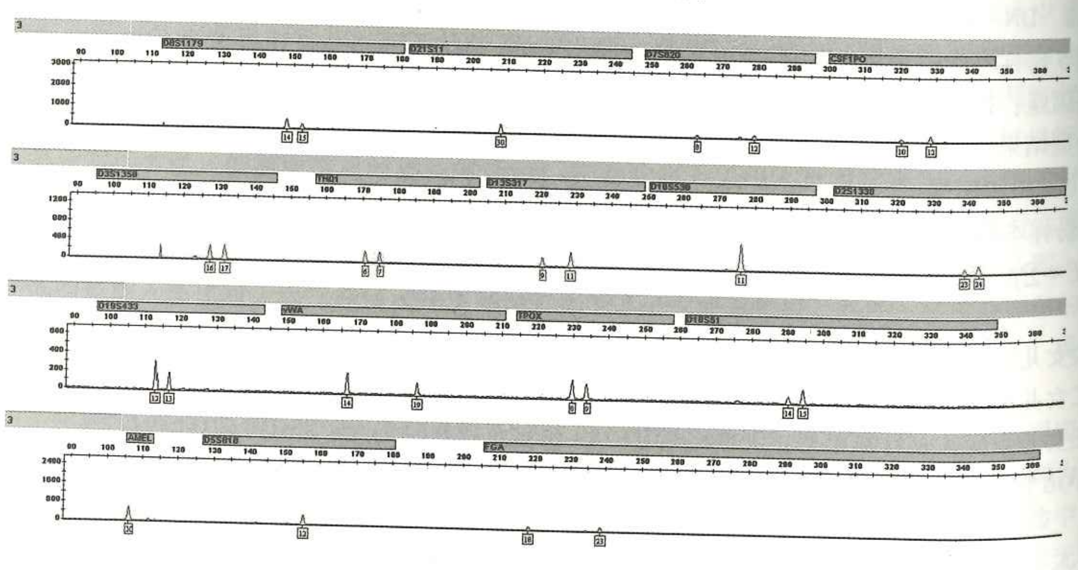


图 3　二女儿血样 STR 分型结果

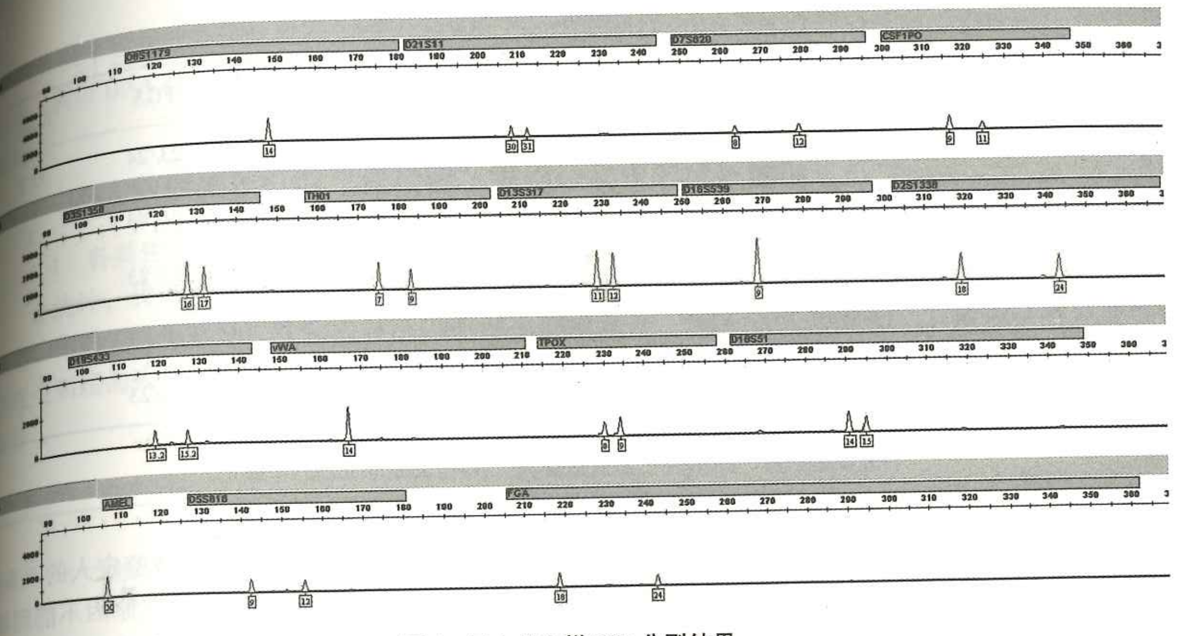


图 4　三女儿血样 STR 分型结果

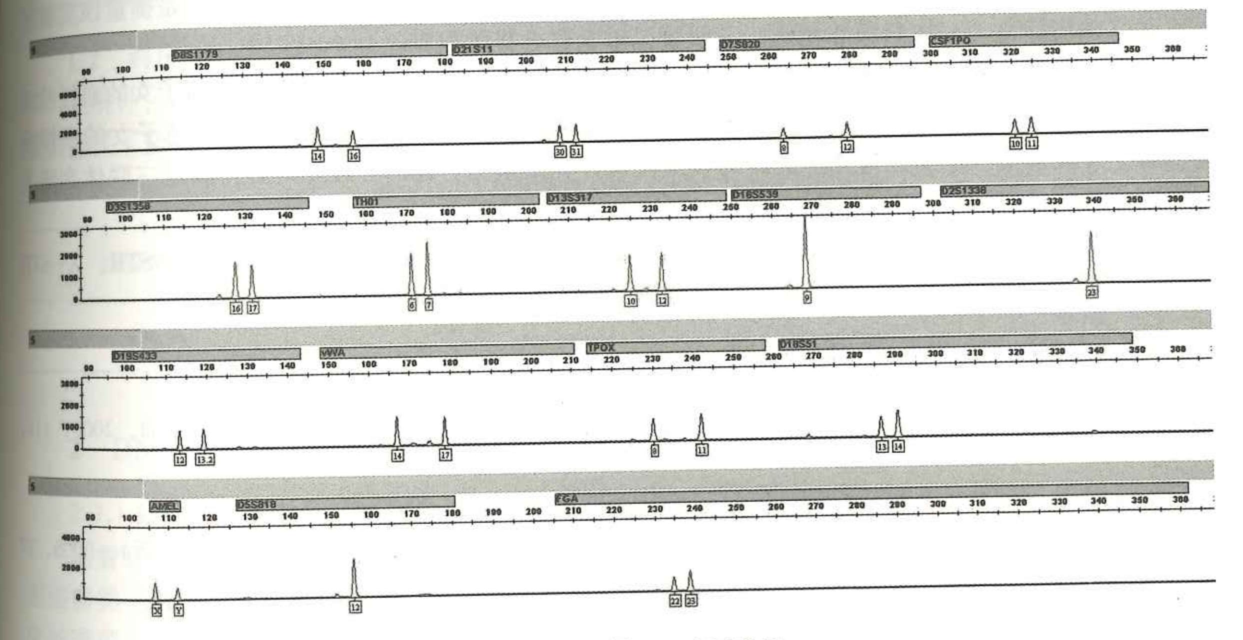


图 5　小儿子血样 STR 分型结果

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539
常某	14/15	30/31	12	11/12	17	7	9/12	9/11
大女儿	14/16	30/31	8/12	9/11	16/17	6/7	11/12	11
二女儿	14/15	30	8/12	10/12	16/17	6/7	9/11	11
三女儿	14	30/31	8/12	9/11	16/17	7/9	11/12	9
小儿子	14/16	30/31	8/12	10/11	16/17	6/7	10/12	9

续表

	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	Amel.
常某	23/24	13/13. 2	14/17	8/9	13/15	12/13	23/24	X/Y
大女儿	18/23	12/13	14/19	8	13/16	12	22/24	X
二女儿	23/24	12/13	14/19	8/9	14/15	12	18/23	X
三女儿	18/24	13. 2/15. 2	14	8/9	14/15	9/12	18/24	X
小儿子	23	12/13. 2	14/17	8/11	13/14	12	22/23	X/Y

2 讨论

单亲亲缘鉴定（二联体）是有别于常规亲缘鉴定（三联体）的特殊情况，指被鉴定人的双亲中只有一人能提供样本进行鉴定。究其原因可能有（1）死亡；（2）外出或其他时空原因不能到场；（3）另有隐情、不配合或故意回避等。与常规的亲缘关系鉴定相比较，由于缺失一方的遗传信息，在鉴定上确实存在误判的风险。在亲缘关系鉴定中所有检测遗传指标的联合排除概率是衡量该实验室质量水平的指标之一，按照国际惯例，一般建议单亲联合排除概率达到 99%以上。

本案中便是因为死者配偶已去世多年，仅能提取其子女进行亲缘鉴定。在对四名子女的血样检测后，相对亲权机会均大于 99%。但笔者考虑到单亲误判的概率较大，又增加了对其他子女的血样检测，从中发现常某三个女儿与死者之间的亲缘关系计算结果为：26298. 12389149，满足三联体亲缘关系鉴定中累计父权指数大于 10000 的要求，鉴定结果更具说服力。

实践证明，在单亲亲缘关系鉴定中，可增加被鉴定人数，增加检测位点，增加 Y-STR，X-STR 检验等手段或方法，从而可以使鉴定结果更准确，降低误判的概率。

【参考文献】

[1] Lee H. S. , Lee J. W. , et al. . Motherless case in paternity testing [J]. Forensic Science International, 2000, 114: 57-56.
[2] 柳燕，李莉. 单亲亲子鉴定的分析研究 [J] . 法医学杂志（电子版），2002，18（2）：86-88.
[3] 于卫建，梁晓华，等. 单亲与双亲亲子鉴定结果的比较分析 [J] . 大连医科大学学报（电子版），2005，27（2）：144-146.

汉中市公安局利用 DNA 技术强力提升打击“盗抢骗”专项行动的破案效能

周 轲
（陕西省汉中市公安局，723000）

近年来，随着 DNA 检验业务范围的拓展，DNA 数据库库容量的迅猛增长，基层公安机关对 DNA 技术运用能力的不断提高，DNA 技术在侦查破案、刑事诉讼等方面发挥了至关重要的作用。截至目前，我市公安机关 DNA 数据库库容共计 16 万条信息，其中违法犯罪人员 DNA 信息 15 万条，每年利

用 DNA 技术破获的案件数量同比增长 30%以上，尤其是在 2016 年 4 月开展打击“盗抢骗”专项行动以来，利用 DNA 技术直接破获案件数量猛增，有效地支撑了打击“盗抢骗”犯罪专项行动的破案效能。

1 DNA 数据库在打击“盗抢骗”专项行动中的应用情况

1.1 各类生物检材的统计和检出情况

经统计，我市“盗抢骗”三类案件中烟蒂、饮料瓶等检材在现场提取检验检材中占据着较大比重，作案工具等接触性生物检材所占比例也逐渐攀升。笔者分析，接触性生物检材的发现提取逐渐受到现勘人员的重视，而烟蒂、饮料瓶等检材的提取已难以为诸多此类案件提供有力的技术支撑。

表 1 2016 年度我市 DNA 实验室受理“盗抢骗”案件检材统计

	唾液斑	接触性检材
检材数量	432	126
检出率	98. 6%	56. 3%

1.2 利用 DNA 数据库比中情况

经统计，2016 年度我市利用 DNA 数据库比中案件 127 起，串并案 46 串，为我市盗抢骗类案件的侦破提供了坚实的证据。

表 2 2016 年度我市 DNA 数据库发挥作用统计

检验案件数	录入 STR 数	比中案件数	串并案件数
436 案	497 条	127 案	46 串

2 DNA 检验技术在案件侦破过程中起到关键作用，主要有以下三个方面

2.1 县级公安机关现场勘查人员加强对现场生物物证的发现和提取能力的提升

随着犯罪嫌疑人反侦查意识的增强，作案时戴手套等一些避免遗留痕迹物证的行为强化，造成入室盗窃类案件中现场遗留的指纹、鞋印等传统痕迹物证越来越少，但犯罪嫌疑人往往容易忽视生物物证的遗留。经过近年来的专业培训和装备建设，县级公安机关现场勘查人员基本能够完成对生物物证的发现和提取工作。

2.2 DNA 检验业务范围的拓展

随着县级公安机关对各类生物检材检验的迫切需求，我市 DNA 实验室在努力做好常规检材检验工作的同时，积极探索、努力钻研，提升在接触类生物检材检验中的能力。并在日常检验中针对不同的检材类型制定了不同的检验方法，提高了检出率，为侦查破案提供了有力的技术支撑。

2.3 DNA 数据库建设能力增强

我局 2016 年年度根据实情，下达采集违法犯罪人员血样 4 万份的任务目标，并且制定严格、详细工作流程，指定专人对血样质量进行核查，确保每一份采集血样的质量。同时，市局 2016 年度一次性投入 300 余万元为 DNA 实验室采购了 3500XL 测序仪、BSD 半自动打孔机和自动化血样管理系统等装备；省厅也为各市配发了自动化工作站、扩增仪和建库所需试剂、耗材。全方位的装

备建设提升了我局 DNA 数据库建设的能力和服务水平。目前，我局 DNA 实验室规模化检验量可达 10 万份/年。

公安部提出“一长四必”的要求，现场勘验中提取的物证必须检验、必须比对，提高了现场物证的提取率和利用率。随着 DNA 数据库建设的逐步完善及数据录入量的增加，DNA 检验技术能力的提高、业务范围的拓展，数据库的比中效率也会越来越高，我局 DNA 技术的应用必将强力提升打击“盗抢骗”行动的破案效能。

DNA 检验技术在性侵案件中的应用

郭晓云，刘　波，李　岩
（陕西省榆林市公安局，719000）

1　案情概要

案例 1：2012 年 8 月某日，陕西省子洲县乔某被猥亵，技术人员提取胸部拭子、四肢拭子等生物检材。

案例 2：2016 年 10 月某日，陕西省子洲县陈某被强奸，技术员提取乳头拭子、阴道拭子等生物检材。

2　DNA 提取与检验

2.1　提取

结合案例 1、案例 2 案情和检材情况制定提取方案，分析拭子中可能包含受害人和犯罪嫌疑人的 DNA，用 M48 磁珠法手工提取。

2.2　扩增

提取的 DNA 分别使用 Identifiler（案例 1）、Identifiler Plus（案例 2）复合扩增系统，经 9700 型扩增仪进行扩增，扩增体系为 10μL，DNA 模板量 1.5μL，28 个循环。

2.3　检测

分别经 3130 型（案例 1）、3500XL 型（案例 2）测序仪进行检测。

3　结果

案例 1 四肢拭子中获得混合 STR 分型（见图 1），案例 2 乳头拭子获得完整的 STR 分型（见图 2）。

案例 1 四肢拭子中检出两人混合 STR 分型，分别包含受害人和犯罪嫌疑人血样的 STR 分型；案例 2 乳头拭子中检出的 STR 分型与犯罪嫌疑人血样的 STR 分型一致。以上案例中受害人的皮肤拭子中均检出犯罪嫌疑人的 DNA，犯罪嫌疑人并对犯罪事实供认不讳。

4　讨论

在性侵案件中犯罪嫌疑人往往会与受害人有亲密接触，基层技术员除了提取疑似精斑外，常会忽略受害人皮肤拭子。

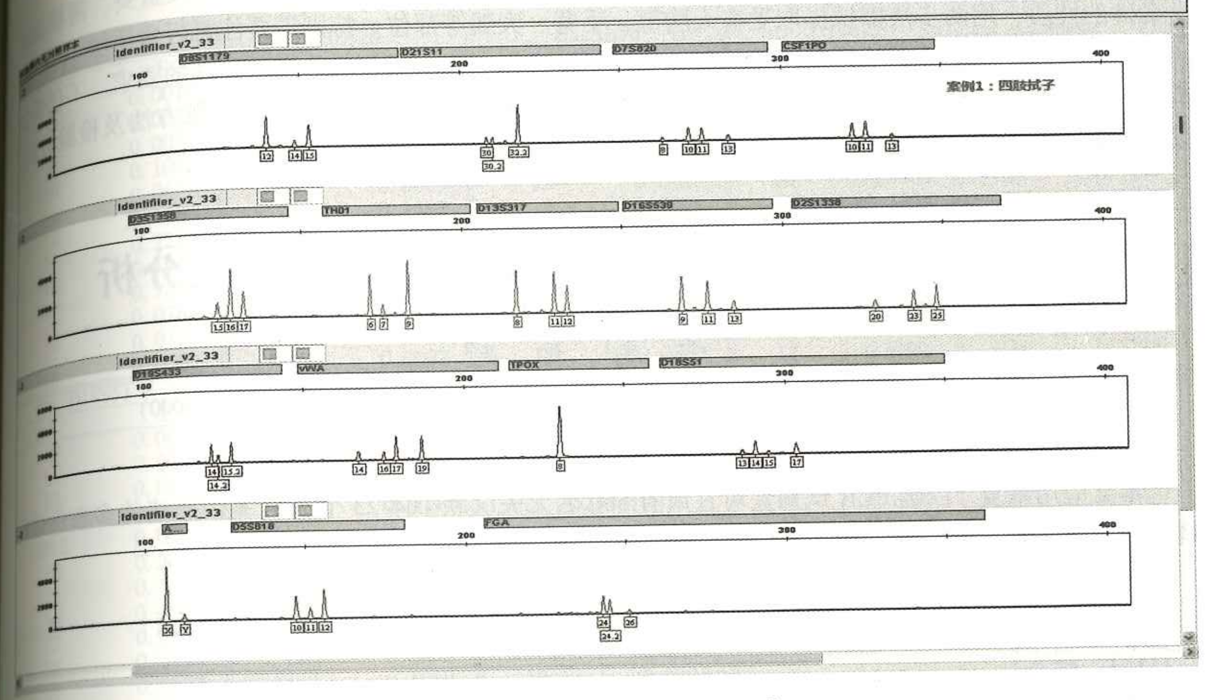


图 1　案例 1 四肢拭子 DNA 分型图谱

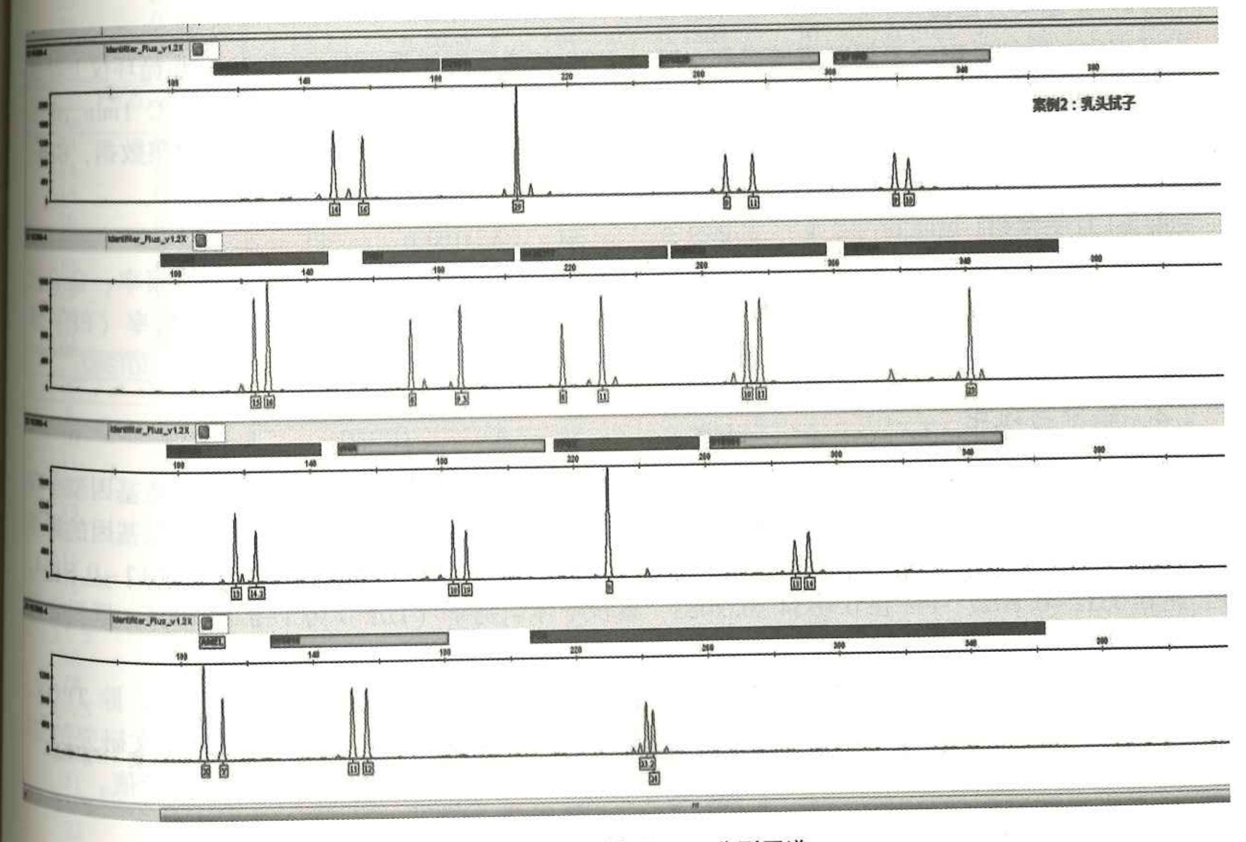


图 2　案例 2 乳头拭子 DNA 分型图谱

能否使提取到的检材能够检测出完整的 DNA 分型，提取部位和方法的选择至关重要，需根据此类案件的性质，用两步法擦拭提取受害人胸部、手臂、大腿等部位。特别需要注意轻重手法。

综上所述，随着社会的发展，性侵案件变得复杂多样，同时对技术员有了更高的要求。不仅要分析案情及提取到关键物证，而且对检验鉴定的能力也要求更高。应选择合适的提取方法及检验方法，以确保高效准确的检验效果。

甘肃汉族人群 23 个 STR 基因座遗传多态性分析

雷　亮[1]，拓　朵[2]

（1. 甘肃省公安厅刑事警察总队，730046；2. 甘肃省庆阳市公安局刑警支队，745000）

本文应用华夏™白金 PCR 试剂盒对甘肃省 560 名无关汉族个体 23 个 STR 基因座遗传多态性进行调查，为法医学及相关研究提供基础数据。

1　材料与方法

1.1　样本

560 例汉族无关个体 FTA 血卡样本取自日常案件和建库积累的样本，其中男性 375 名，女性 185 名。

1.2　扩增及分型检测

采用华夏™白金 PCR 直接扩增试剂盒，10μL PCR 扩增反应体系，在 AB 9700 型热循环仪上对 23 个 STR 基因座进行复合扩增，热循环参数为：95℃ 11min；94℃ 20s，59℃ 2min，72℃ 1min，60℃ 30min；4 ℃保温。在 AB3500 遗传分析仪上进行分型，应用 Data Collection 1.0 软件收集数据，GeneMapper ID-X v1.2 软件进行基因分析。

1.3　计学分析

应用 Pwerstate V1.2 软件计算 560 名无关个体的 23 个 STR 基因座的等位基因频率、杂合度（H）、匹配概率（Pm）、个体识别能力（DP）、多态性信息含量（PIC）和非父排除概率（PE）等法医学参数。Arlequin version 3.5 软件进行 Hardy-Weinberg 平衡检验。

2　结果与讨论

560 名无关个体 23 个 STR 基因座的等位基因频率及遗传学参数见表 1、2，各基因座基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡（$P>0.05$）。23 个 STR 基因座共检出 288 个等位基因，各等位基因的频率分布在 0.0009～0.5232，H 在 0.6321～0.9036，DP 值在 0.7947～0.9866，PIC 在 0.5612～0.9134，PE 在 0.3312～0.8027，Pm 在 0.0134～0.2053，累积个体识别率（TDP）为 $1-5.8\times10^{-28}$，累积非父排除率（CPE）为 $1-4.8\times10^{-10}$。

一般认为 H>0.7，DP>0.9 作为高鉴别能力的指标。由表 2 可知，23 个基因座中，除 TPOX、CSF1PO、TH01、D3S1358、D10S1248 外，其余均为高鉴别能力基因座。综上所述，本文研究的 23 个 STR 基因座具有较好的遗传多态性，在法医学个体识别和亲权鉴定中具有较高的应用价值。

表 1　甘肃汉族人群 23 个 STR 基因座等位基因频率分布（n=560）

基因座	A	F
D8S1179	5	0.0018
	6	0.0045
	8	0.0036
	10	0.1098
	11	0.0652
	12	0.1250
	13	0.2259
	14	0.1946
	15	0.1804
	16	0.0768
	17	0.0116
	18	0.0009
D18S51	10	0.0009
	11	0.0063
	12	0.0313
	13	0.1938
	13.2	0.0009
	14	0.2089
	15	0.1420
	16	0.1464
	17	0.0696
	18	0.0438
	19	0.0527
	20	0.0420
	21	0.0241
	22	0.0223
	23	0.0089
	24	0.0045
	25	0.0009
	27	0.0009
VWA	13	0.0018
	14	0.2411
	15	0.0402
	16	0.1750
	17	0.2473
	18	0.1866
	19	0.0911
	20	0.0152
	21	0.0018
D6S1043	9	0.0030
	10	0.0290
	11	0.1130
	12	0.1130
	13	0.1380
	14	0.1310
	15	0.0120
	16	0.0020
	17	0.0370
	17.3	0.0010
	18	0.1730
	19	0.1620
	19.3	0.0010
	20	0.0070
	20.3	0.0010
	21	0.0100
	21.3	0.0030
	22	0.0010
	22.3	0.0010
D7S820	7	0.0036
	8	0.1688
	9	0.0607
	9.1	0.0009
	9.2	0.0009
	10	0.1580
	10.1	0.0009
	10.3	0.0009
	11	0.3196
	12	0.2429
	13	0.0402
	14	0.0027
D19S433	8	0.0009
	9	0.0036
	10	0.0009
	11	0.0045
	11.2	0.0009
	12	0.0420
	12.2	0.0045
	13	0.2911
	13.2	0.0500
	14	0.2455
	14.2	0.1089
	15	0.0714
	15.2	0.1277
	16	0.0152
	16.2	0.0268
	17	0.0027
	17.2	0.0036
D22S1045	8	0.0054
	9	0.0027
	10	0.0009
	11	0.2464
	12	0.0027
	13	0.0071
	14	0.0205
	15	0.2759
	16	0.2384
	17	0.1777
	18	0.0205
	19	0.0009
	20	0.0009
D21S11	27	0.0027
	27.2	0.0009
	28	0.0313
	28.2	0.0080
	29	0.2688
	29.2	0.0036
	30	0.2955
	30.2	0.0161
	30.3	0.0045
	31	0.0893
	31.2	0.0866
	32	0.0259
	32.2	0.1232
	33	0.0027
	33.2	0.0384
	34.2	0.0027
D1S1656	8	0.0009
	9	0.0009
	10	0.0009
	11	0.0625
	12	0.0518
	13	0.0964
	14	0.0607
	15	0.3018
	15.3	0.0018
	16	0.2482
	16.3	0.0125
	17	0.0804
	17.3	0.0491
	18	0.0116
	18.3	0.0170
	19	0.0018
	19.3	0.0018
D2S441	8	0.0125
	8.1	0.0027
	9	0.0018
	9.1	0.0196
	10	0.2598
	10.1	0.0018
	11	0.3295
	11.3	0.0188
	12	0.1866
	12.3	0.0009
	13	0.0277
	14	0.1304
	15	0.0071
	16	0.0009
D2S1338	16	0.0027
	17	0.0732
	18	0.0973
	19	0.1679
	20	0.1223
	21	0.0375
	22	0.0438
	23	0.2259
	24	0.1634
	25	0.0536
	26	0.0071
	27	0.0054
TPOX	8	0.5232
	9	0.1455
	10	0.0125
	11	0.2866
	12	0.0277
	13	0.0036
	14	0.0009
D5S818	7	0.0232
	8	0.0018
	9	0.0741
	10	0.1893
	11	0.3393
	12	0.2143
	13	0.1473
	14	0.0107
PentaE	5	0.0563
	7	0.0045
	8	0.0045
	9	0.0080
	10	0.0304
	11	0.1375
	12	0.1009
	13	0.0527
	14	0.0786
	15	0.1054
	16	0.0893
	17	0.0741
	17.4	0.0009
	18	0.0830
	18.4	0.0036
	19	0.0598
	20	0.0491
	21	0.0295
	22	0.0143
	23	0.0080
	24	0.0054
	25	0.0027
	26	0.0018
TH01	6	0.0732
	7	0.2946
	8	0.0500
	9	0.5223
	9.3	0.0429
	10	0.0161
	12	0.0009
PentaD	5	0.0009
	6	0.0027
	7	0.0116
	8	0.0500
	9	0.2929
	10	0.1232
	11	0.1777
	12	0.1607
	13	0.1313
	14	0.0420
	15	0.0071
D10S1248	10	0.0009
	11	0.0063
	12	0.0643
	13	0.3804
	14	0.2402
	15	0.2063
	16	0.0777
	17	0.0241
CSF1PO	7	0.0018
	8	0.0018
	9	0.0500
	10	0.2375
	11	0.2446
	12	0.3625
	13	0.0911
	14	0.0107
FGA	13	0.0009
	18	0.0241
	19	0.0473
	20	0.0554
	21	0.1134
	22	0.1732
	22.2	0.0045
	23	0.2116
	23.2	0.0107
	24	0.1848
	24.2	0.0071
	25	0.1000
	25.2	0.0027
	26	0.0473
	26.2	0.0018
	27	0.0134
	27.2	0.0009
	28	0.0009
D12S391	14	0.0009
	15	0.0063
	16	0.0125
	17	0.0982
	17.3	0.0045
	18	0.2393
	18.2	0.0009
	18.3	0.0009
	19	0.2214
	20	0.1571
	21	0.0982
	22	0.0857
	23	0.0482
	24	0.0143
	25	0.0089
	26	0.0027
D13S317	5	0.0009
	7	0.0009
	8	0.2679
	9	0.1277
	10	0.1366
	11	0.2402
	12	0.1750
	13	0.0393
	14	0.0116
D16S539	8	0.0098
	9	0.2920
	10	0.1152
	11	0.2429
	12	0.2161
	13	0.1125
	14	0.0116
D3S1358	11	0.0009
	14	0.0491
	15	0.3580
	16	0.3196
	17	0.1920
	18	0.0759
	19	0.0045

表 2 甘肃汉族人群 23 个 STR 基因座群体遗传学参数（n=560）

基因座	H	DP	PIC	PE	Pm
D8S1179	0. 8250	0. 9539	0. 8207	0. 6462	0. 0461
D18S51	0. 8732	0. 9647	0. 8494	0. 7411	0. 0353
vWA	0. 8017	0. 9321	0. 7765	0. 6124	0. 0679
D6S1043	0. 8890	0. 9700	0. 8600	0. 7740	0. 0300
D7S820	0. 7929	0. 9171	0. 7471	0. 5859	0. 0829
D21S11	0. 8179	0. 9335	0. 7819	0. 6326	0. 0665
D19S433	0. 8071	0. 9443	0. 7940	0. 6124	0. 0557
D22S1045	0. 7589	0. 9116	0. 7364	0. 5252	0. 0884
D1S1656	0. 7964	0. 9457	0. 7975	0. 5924	0. 0543
D2S441	0. 7839	0. 9108	0. 7355	0. 5696	0. 0892
D2S1338	0. 8464	0. 9623	0. 8423	0. 6878	0. 0377
TPOX	0. 6393	0. 7947	0. 5612	0. 3407	0. 2053
D5S818	0. 7750	0. 9147	0. 7419	0. 5535	0. 0853
Penta E	0. 9036	0. 9866	0. 9134	0. 8027	0. 0134
Penta D	0. 7804	. 09454	0. 7971	0. 5631	0. 0546
CSF1PO	0. 7464	0. 8899	0. 6987	0. 5037	0. 1101
D10S1248	0. 7143	0. 8988	0. 7051	0. 4507	0. 1012
TH01	0. 6321	0. 8032	0. 5758	0. 3312	0. 1968
FGA	0. 8536	0. 9617	0. 8444	0. 7019	0. 0383
D12S391	0. 8393	0. 9536	0. 8203	0. 6739	0. 0464
D16S539	0. 7661	0. 9171	0. 7491	0. 5377	0. 0829
D3S1358	0. 7464	0. 8766	0. 6770	0. 5037	0. 1234
D13S317	0. 8125	0. 9304	0. 7746	0. 6224	0. 0696

【参考文献】

[1] Tereba A.. Tools for analysis of population statistics [J]. Profiles DNA, 1999, (3): 14-16.

[2] Laurent E., Heidi L. L.. Arlequin suite ver3.5: a new series of programs to perform population genetics analysis under Linux and Windows [J]. Mol Ecol Resour, 2010, 10 (3): 564-567.

[3] Gill P., Urquhart A., Millican E., et al.. A new method of STR interpretation using inferential logic development of a criminal intelligence database [J]. Int J Leg Med, 1996, 109 (1): 14-22.

葡萄胎亲权鉴定一例

刘贤海[1]，金育红[2]，雷　亮[1]，聂笑联[1]

（1. 甘肃省公安厅，730030；2. 甘肃省甘南藏族自治州公安局，747000）

1 简要案情

2016 年 4 月 8 日，东乡县河滩镇大源村八社的马某在家门口将章某诱骗至家中强奸。一月后，章某因阴道不规则流血前往妇幼保健院治疗，经医院确诊为完全性葡萄胎，行葡萄胎清宫术治愈后出院，清宫产物送检实验室。

2 检验方法

将清宫产物清水冲洗后，选取胎膜多处，Chelex-100 法提取，ID-plus 和 AGCU-X19 试剂盒进行 PCR 复合扩增，ABI-3500 型基因分析仪电泳分析，与犯罪嫌疑人、受害人 DNA 分型比对亲缘关系。

3 检验结果

3.1 常染色体分型结果

清宫葡萄胎胎膜组织往往易于破碎，提取时避免过于破碎，不易区分，本案多处清宫组织检出混有母体 DNA 的混合型结果，两份胎膜组织检出的 15 个位点扩增带纹完全来自父方的“遗传学完全性葡萄胎”，显示为一条带纹的“纯合子”葡萄胎，受精形式为单精子空卵受精。样本的 STR 分型见表1，完全性葡萄胎（1 号样本）的 STR 分型图谱见图 1。

表 1 常染色体 STR 多态性检验结果

检材编号	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539
1 号胎膜	15	32. 2	10	11	17	9	11	9
2 号胎膜	12/13/15	28/30/32. 2	10/11	11/13	15/16/17	7/9	11/12	9/11/12
受害人章某	12/13	28/30	10/11	11/13	15/16	7/9	11/12	11/12
嫌疑人马某	13/15	32/32. 2	10/10	11/12	17/17	7/9	9/11	9/9
检材编号	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	Amel
1 号胎膜	17	15. 2	14	11	15	11	24	X
2 号胎膜	17/20/24	13/15/15. 2	14/18	8/11	12/13/15	11/13	23/24	X/X
受害人章某	20/24	13/15	18/18	8/8	12/13	11/13	23/23	X/X
嫌疑人马某	17/23	14/15. 2	14/14	8/11	15/16	11/11	23/24	X/Y



图 1　完全性葡萄胎的 STR 分型图谱

3.2　X 染色体分型结果

检验葡萄胎、犯罪嫌疑人马某、受害人章某 X 染色体 DNA 分型，见图 2~图 3。由于 X 染色体呈母系遗传，父—女间 XSTR 分型结果相同。本案葡萄胎与犯罪嫌疑人马某在 DXS8378 等 19 个基因座单倍型相同。

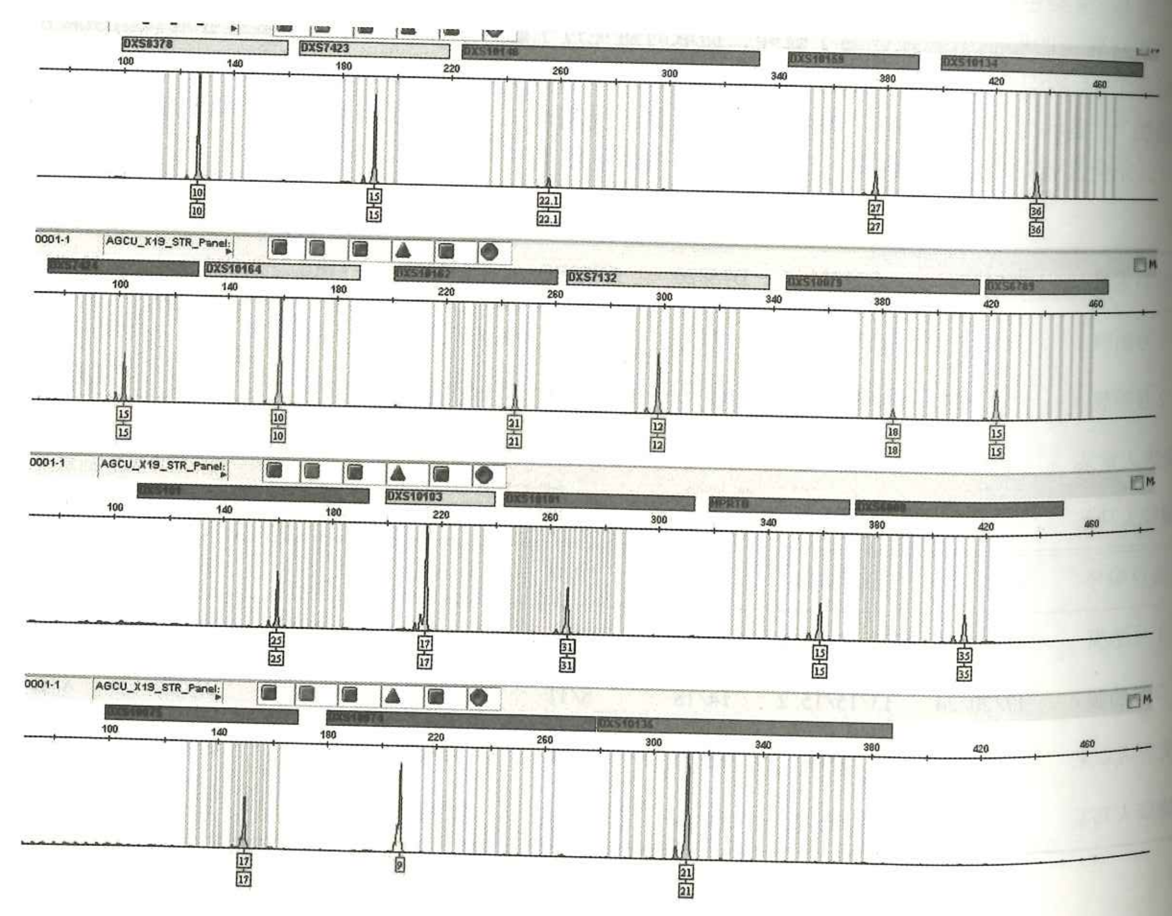


图 2　完全性葡萄胎 CHM X 染色体 DNA 分型

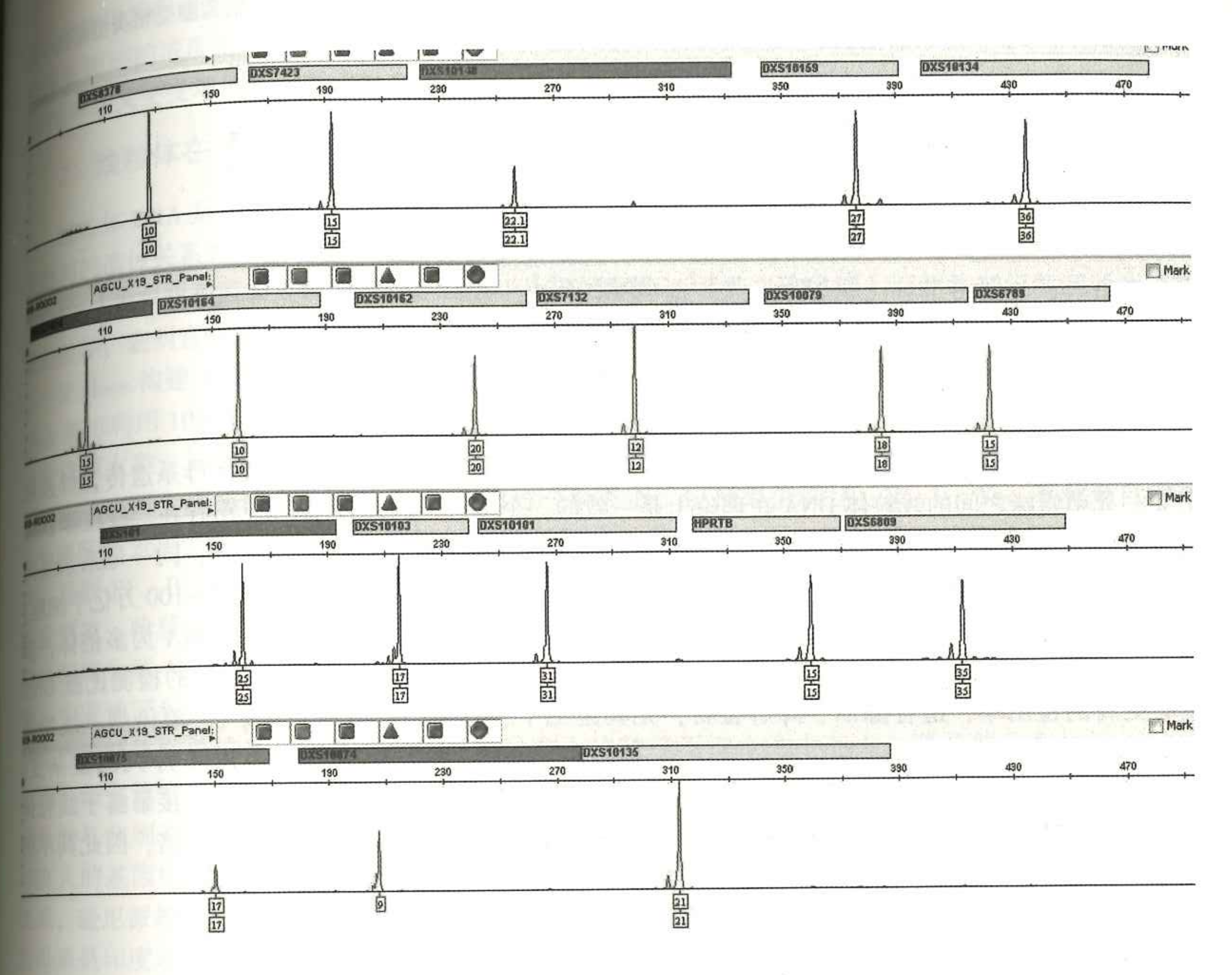


图 3　嫌疑人马某 X 染色体 DNA 分型

4　讨论

葡萄胎受精类型的鉴别研究一直是临床医学研究的难点。葡萄胎（HM）是异常受精所致的妊娠滋养细胞疾病。以绒毛水肿变性和滋养细胞增生为主要特征。遗传学上分为完全性葡萄胎（CHM）和部分性葡萄胎（PHM）。CHM 受精形式又分为单精子空卵受精和空卵双精子受精，DNA 常染色体检测结果分别显示为“纯合子型”与“杂合子型”；PHM 受精形式为单倍体卵子与双精子受精，DNA 常染色体检测结果为“杂合子型”。目前利用激光捕获显微切割技术（Laser Capture Microdesection，LCM）是最好的纯化靶细胞方法之一。该技术可以很好地对组织细胞进行分离，能够从微小样本中获取高纯度的目的细胞。不同受精形式 STR 多态性在电泳图上所显示的分型不同，根据 STR 电泳带纹的显示情况，完全可以判定 HM 遗传物质的来源和受精类型。如本案电泳条带在 15 个位点都出现一条，并且来自父方，则可以判定为 CHM 类的“单精子空卵受精”。结合 X 染色体检测结果，可判断犯罪嫌疑人马某的犯罪事实。

【参考文献】

[1] 张小为，朱浩彬，高雅琴，等. 复合微卫星序列多态性在葡萄胎受精类型鉴别中的应用研究［J］. 中国妇产科临床杂志，2004，5（2）：120-122.

[2] 李晓倩，杨静，杨邵敏，等. 激光捕获显微切割技术联合短串联重复序列多态性分析在葡萄胎受精类型鉴别中的应用研究 [J]. 中国优生与遗传杂志. 2011，19（6）：16-19.

线粒体 DNA 在法医学中的应用展望

霍亚菲[1]，杨　鑫[1,2]，杨　佳[1]，马　宏[1]，
哈　飞[1,2]，骆继怀[1,2]，孙红兵[1,2]
（1. 甘肃省兰州市公安局刑事科学技术研究所，730030；
2. 甘肃省证据科学技术研究与应用重点实验室，730070）

人类线粒体 DNA（mtDNA）是位于细胞核以外的唯一基因组 DNA，主要遵循母系遗传，母亲和子女、兄弟姐妹之间的线粒体 DNA 在理论上是一致的，个体唯一的线粒体 DNA 不存在。线粒体 DNA 与核 DNA 相比有着独特的特点：1. 母系遗传。在没有突变和异质型存在的情况下，同一母系亲属间线粒体 DNA 序列完全一致，适用于身源鉴定和同一认定。2. 拷贝数多。人体有 35~100 万亿个细胞，每个细胞平均含有 10~1000 个线粒体。体细胞核基因组 DNA 为双倍体，线粒体 DNA 为多倍体，多数线粒体内有多个拷贝的线粒体 DNA，处于“已扩增”状态。因此对线粒体 DNA 的检测比核 DNA 具有更高的检出率，适合陈旧、降解检材，尤其是毛干、骨骼、牙齿的检验。3. 单倍型。线粒体 DNA 为单倍型，不存在解读复杂的杂合子测序结果的问题，大大减少了译读 DNA 序列的复杂度。4. 进化速度快，突变率高。线粒体 DNA 缺乏组蛋白的保护和必要的修复机制，又直接暴露于线粒体氧化磷酸化过程中产生的游离氧中，使得线粒体 DNA 的进化速度是核 DNA 的 5~10 倍，因此其不同母系个体的个体识别率较以往单一扩增系统高。

1　线粒体在医学方面的研究

线粒体是细胞的能量工厂，控制着生命体所有能量的产生，是生命体最重要的能量机器。而线粒体所控制的基因又是构成氧化磷酸化的不可缺少的亚基，如果线粒体发生有害突变而影响线粒体功能，则会产生相应的线粒体疾病。突变与疾病的关系模式又非常复杂，不同基因突变可能对应类似的表型，同一基因可能造成不同的表型，而相同的基因突变不同的细胞杂合程度又会造成不同的表型。

首先，生殖细胞的线粒体突变会造成母系遗传疾病。有些突变能够与疾病特征很好的关联，比如 Leber 氏视神经病变，这是第一个被验证与母系遗传病病有直接关系的疾病。95%的疾病产生原因都可以归结于线粒体序列上的三个突变（G11778A，T14484C，G3460A）。此外，线粒体突变还能导致 Leber 氏综合征，一系列线粒体肌病等遗传病。

其次，由于线粒体处在生命体内新陈代谢的核心位置，线粒体突变会引起一系列的代谢类疾病，比如肥胖和型糖尿病。现代人因食谱改变而易得 1 型糖尿病，其可能的原因是由于过多的能量使氧化磷酸化系统过载阻塞了呼吸链中间产物电子的及时传递，从而导致 ROS 上升，容易造成线粒体及其损伤，致使呼吸链退化。通常线粒体功能失调也会进一步导致脂肪酸氧化能力退化，造成脂肪酸分解障碍，从而倾向于合成脂肪导致肥胖。而线粒体 DNA 的不同单倍群间也被证明有不同的代谢率，而这些代谢率都可能调控着 ROS 产量，从而控制着代谢类疾病的发生。

再者，一些老年性疾病则可能与体细胞突变有关。随着年龄的增长，体细胞线粒体 DNA 突变累积的现象在一些“老龄化”的组织及种类繁多的老龄化相关疾病中都有报道。在小鼠中，如果加快了小鼠的体细胞突变率，也就加快了其老龄化过程。如果引入突变保护机制，则延长了其寿命。另

外，线粒体基因组的差异本身也容易关联生物寿命的长短。癌症同样也是一个老年性相关的疾病，线粒体中 ROS 的浓度对于癌发生也是一个非常重要的作用因素。比如线粒体中的 ND6 非同义突变、ATP6 非同义突变增加了线粒体中 ROS 含量，从而导致或者促进了癌症。

2　线粒体在人类学方面的研究

线粒体 DNA 呈单倍型遗传，极少发生重组，所以通过突变向多态性的稳定积累，可以反映不同人群间的遗传关系和推断它们的遗传历史。通过对不同人群单倍群的分析来推断人群的亲缘关系，Ennafaa 认为东非和西非人群的差异要归因于地理的屏障而不是文化屏障，而北非和伊波利亚半岛世袭的差异，表明直布罗陀海峡在同一时期影响了男性和女性基因的漂流。

Wallace 构建了完整的线粒体 DNA 亚洲系统发生树，这一系统发生树显示所有的亚洲人线粒体 DNA 都可利用 10394 位点上多态造成的 Dde 酶切位点和在 10397 位点上的 Alu Ⅰ 酶切位点存在与否分成两大类，如果这两个位点都存在，单倍型组就称为 M 聚类，包括 C、D、E、G 单倍群，而同时缺乏这两个酶切位点的线粒体 DNA 为另一聚类 N，包括单倍群 A、B、F。Yao 等对来自中国 6 个地区共 263 个汉族个体进行了详尽的类群划分，其结果表明，不同汉族地理人群间的差异较大，且群 F1、B 及 D4 的频率分布由南至北呈梯度变化。中国新疆 5 个少数民族群体（维吾尔、乌兹别克、哈萨克、蒙古及回族）共 252 个个体的单倍群除了 8 个个体外，其余所有个体均可明确地归属为群 M 及 N（包括 R）的亚群，这个结果与中亚其实是东亚与欧洲的遗传混合之地相一致。中亚地区各群体的遗传结构表现为蒙古人种与高加索人种的基因融合，新疆的维吾尔族、哈萨克族等群体在单倍型和一些变异位点的分布上比较接近现今的中亚人，混有部分高加索人种的血缘，但主体变异还是表现为蒙古人种。金元时期的王曲部落包含亚洲和欧洲母系，可能是突厥语系的乌兹别克的共同祖先。此外印度人和高加索人/欧洲的 R1a 谱系在 165000 年前有一个断裂，印度人的基因库与东亚大陆的基因库有很近的关系，而西北部部落比其他部落与东亚有更近的亲缘关系，逊尼派教徒和什叶派的单倍群相似，具有西亚特征的线粒体 DNA 单倍群显著缺乏，提示他们的母系是印度起源，M 亚群什叶派>逊尼派，而 R 群逊尼派>什叶派，这个差异并不和地域、社会地位有联系。

3　线粒体在法医学方面的研究现状及应用展望

线粒体特性决定了它的遗传方式。尽管线粒体的高突变率有时会给确定家系关系带来障碍，但是在绝大多数人类个体识别中变异率增加是有益的。而且线粒体的闭合结构使它不易受核酸外切酶的影响，有助于提高的片段保存的完整性，更易扩增。

有研究将 18 个线粒体 SNPs 位点复合检测系统应用于 50 起案件的检验，检材包括陈旧血痕、腐败的肌肉、脱落细胞、软骨以及牙齿、骨等，通过 STR 和线粒体 SNPs 并行对照检验分型，结果表明，由于改进提取技术如磁珠提取法等，DNA 模板质量得到了提高，STR 及线粒体 SNPs 的检出率均达到 80%以上，且由于线粒体 DNA 的拷贝数多于核 DNA，其模板的用量也比核 DNA 要少，线粒体 SNPs 的检出率高于 STR。软骨、陈旧骨骼、腐败的肌肉等因外界理化因素的影响，造成不同程度的核 DNA 降解和消失，从而影响 STR 的检测效果。陈旧骨骼 STR 检出率较低，检出 STR 位点 10 个以上的检材检出率仅为 42.9%，但经线粒体 SNPs 检验，检出 15 个 SNPs 位点的检材检出率却可达到 85.7%，对于其他组织，15 个 SNPs 位点的检材检出率均明显高于 STR 检验，说明线粒体 SNPs 复合扩增检测系统在腐败降解等疑难检材的检验中均具有较高的实际应用价值，能成为 STR 遗传标记检测的有益补充手段。

此外，细胞线粒体 DNA 中异质性现象也曾多次被报道过，且同一个体内不同组织来源细胞中的线粒体 DNA 呈现的异质性亦有较大差异。线粒体 DNA 异质性是影响法医线粒体分析系统效能的因素

之一。Tang 等采用 Illumina 测序系统检测全线粒体 DNA 序列的异质性，结果表明，使用新一代测序技术检测全线粒体范围的异质性具有准确、高通量、低成本、操作简单的优点。此外，Holland 等使用 454GSJunior 系统，同时检测样本线粒体高变区及常染色体 STR D18S51 和 Y-STR DYS389I/II 基因组座，可以检出混合比例低至 1：250 的异质性或混合样本，并且指出如果提高测序覆盖度，低至 1：1000 混合比例仍可检出。

在新的测序方法出现前便有学者研究发现，线粒体的全基因组测序相较于高变区的测序有更高的识别能力，但由于种种限制使得通过将编码区的 SNP 位点联合高变区测序成为全基因测序的替代，但这始终无法达到全基因组测序的高分辨率。新的技术出现后，许多学者便尝试将其用于法医学的研究，包括 Loreille 等利用二代测序平台对高度降解的未知名骨骼样本进行了线粒体全基因组测序。King 等对 2014 年英国出土的怀疑为理查三世的尸骨进行了鉴定，通过 Y 染色体、线粒体和表观遗传 SNP 相关位点的联合应用确认该遗骨确为理查三世。其中线粒体就是采用 DNA 杂交捕获后的长片段扩增，在二代测序平台上获得全基因组数据，并得到了完美比对结果。通过对线粒体分析，在个体识别和亲权鉴定上，可通过其母系遗传特征及全基因组测序对失踪人口、大型灾难调查、腐败降解检材进行鉴定以及兄弟、姐妹关系认定。综上所述，线粒体 DNA 作为新一代遗传标记，在法医学应用方面有良好的应用前景。

【参考文献】

[1] 裴林国，席焕久，刘海东. 线粒体 DNA 多态性在人类学研究中的应用［J］. 中国组织工程研究与临床康复. 2010，14（7）：1291-1294.

[2] 逷冬冬，张咸宁，祁鸣. 人线粒体 DNA 与衰老和退行性疾病的研究进展［J］. 浙江大学学报医学版. 2007，36（1）：93-97.

[3] Yao YG，Kong QP，Bandelt HJ，et al. Phylogeographic differentiation of mitochondrial DNA in Han Chinese. Am J Hum Genet. 2002，70（3）：635-651.

[4] 孔庆鹏，张亚平. 人类线粒体 DNA 世系的系统发育关系研究［J］. 生命科学. 2008，20（4）：540-548.

[5] 王炳蔚，郑瑞茂. 人类 FTO 基因变异抑制脂肪细胞线粒体产热导致肥胖［J］. 生理科学进展. 2015（6）：472.

[6] 杨留启，谭思杰，俞海菁，等. 线粒体 DNA 多态性揭示丝绸之路上游地区少数民族的基因融合［J］. 生命科学. 2008（4）：368-376.

[7] 黄珊，高文祥，高钰琪. 线粒体 DNA 稳定性与疾病的关系［J］. 中国病理生理杂志. 2014，30（2）：369-373.

[8] 杨昭庆，褚嘉祐. 中国人类遗传多样性研究进展［J］. 遗传. 2012，34（11）：1351-1364.

[9] Ennafaa H.，Cabrera V. M.，Abu-Amero K. K.，et al.. Mitochondrial DNA haplogroup H structure inNorth Africa［J］. BMC Genet. 2009，10（1）：8.

[10] Perego U. A.，Achilli A.，Angerhofer N.，et al.. Distinctive Paleo-Indian migration routes from Beringia marked by two rare mtDNA haplogroups［J］. Curr Biol. 2009 19（1）：1-8.

[11] Wallace D. C.，Brown M. D.，Lott M. T.. Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease［J］. Gene. 1999 238（1）：211-230.

[12] Yao Y. G.，Kong Q. P.，Wang C. Y.，et al.. Different matrilineal contributions to genetic structure of ethnic groups in the silk road region in china［J］. Mol Biol Evol. 2004，21（12）：2265-2280.

[13] Yao Y. G.，Lu X. M.，Luo H. R.，et al.. Gene admixture in the silk road region of China：evidence from mtDNA and melanocortin 1 receptor polymorphism［J］. Genes Genet Syst. 2000，75（4）：173-178.

[14] Fu Y.，Zhao H.，Cui Y.，et al.. Molecular genetic analysis of Wanggu remains Inner Mongolia China［J］. Am J Phys Anthropol. 2007，132（2）：285-291.

[15] Malyarchuk B.，Grzybowski T.，Derenko M.，et al.. Mitochondrial DNA phylogeny in Eastern and Western Slavs［J］. Mol Biol Evol. 2008，25（8）：1651-1658.

[16] Cordaux R.，Saha N.，Bentley G. R.，et al.. Mitochondrial DNA analysis reveals diverse histories of tribal populations

from India［J］. Eur J Hum Genet. 2003，11（3）：253-264.

[17] Terreros M. C.，Rowold D.，Luis J. R.，et al.. North Indian Muslims：enclaves of foreign DNA or Hindu converts［J］? Am J Phys Anthropol. 2007，133（3）：1004-1012.

[18] Tang S.，Huang T.. Characterization of mitochondrial DNA heteroplasmy using a parallel sequencing system［J］. Biotechniques. 2010，48（4）：287-296.

[19] Holland M.，McQuillan M.，O'Hanlon K.. Secondgeneration sequencing allows for mtDNA mixture deconvolution and high resolution detection of heteroplasmy［J］. CroatMedJ. 2011，52（3）：99-313.

[20] 何琼，刘超，刘长晖，等. 线粒体单核苷酸多态性复合扩增体系在疑难检材中的法医学应用研究［J］. 南方医科大学学报. 2010，30（1）：79-83.

[21] Coble M. D.，Just R. S.，O'Callaghan J. E.，et al.. Single nucleotide polymorphisms over the entire mtDNA genome that increase the power of forensic testing in Caucasians［J］. Int J Legal Med. 2004，118（3）：137-146.

[22] Loreille O.，Koshinsky H.，Fofanov V. Y.，et al.. Application of next generation sequencing technologies to the identification of high degraded unknown soldiers'remains［J］. Forensic Sci Int Genet Supplement Series. 2011，e540-e541.

[23] King T. E.，Fortes G. G.，Balaresque P.，et al.. Identification of the remains of King Richard III［J］. Nat Commun，2014，5：5631.

亲子鉴定中男性样本 Amelogenin 基因座 Y 片段缺失一例

陈　昕[1]，张向龙[2]，雷　亮[3]

（1. 甘肃省白银市公安局刑侦支队，730900；2. 甘肃省定西市公安局刑侦支队，743000；
3. 甘肃省公安厅物证鉴定中心，730046）

1　案例资料

1.1　简要案情

2015 年 11 月的一例亲子鉴定案件中，发现父亲与儿子的 Amelogenin 基因座检测结果均显示为女性。

1.2　DNA 检验

父亲血样标记为样本 1，母亲血样标记为样本 2，孩子血样标记为样本 3，用 Identifililer Plus 试剂盒、Yfiler Plus 试剂盒直接扩增血卡 DNA，扩增反应体系均采用 10μL。用 3500 遗传分析仪对扩增产物进行毛细管电泳分离，使用 Genemapper IDX v1.2 软件分析检测结果。

1.3　常染色体 STR 及 Y-STR 检验结果

样本 1、样本 2 及样本 3 采用 Identifililer Plus 试剂盒的检验结果见图 1、图 2、图 3。

样本 1、样本 3 采用 Yfiler Plus 试剂盒的检测。结果见图 4、图 5。

亲子鉴定结果显示被检测父母与孩子的 15 个常染色体 STR 分型符合父母—子亲缘遗传关系，但父亲与儿子的 Amelogenin 基因座上均未检测到源于 Y 染色体上的特征性片段。Y 染色体上的遗传标记结果显示，在检验的 27 个 Y-STR 基因座上，有 5 个基因座（DYS576，DYS627，DYS458，DYS570，DYS481）的等位基因均未检测到，其他基因座 22 个 Y-STR 基因座显示父亲和孩子来自同一父系。

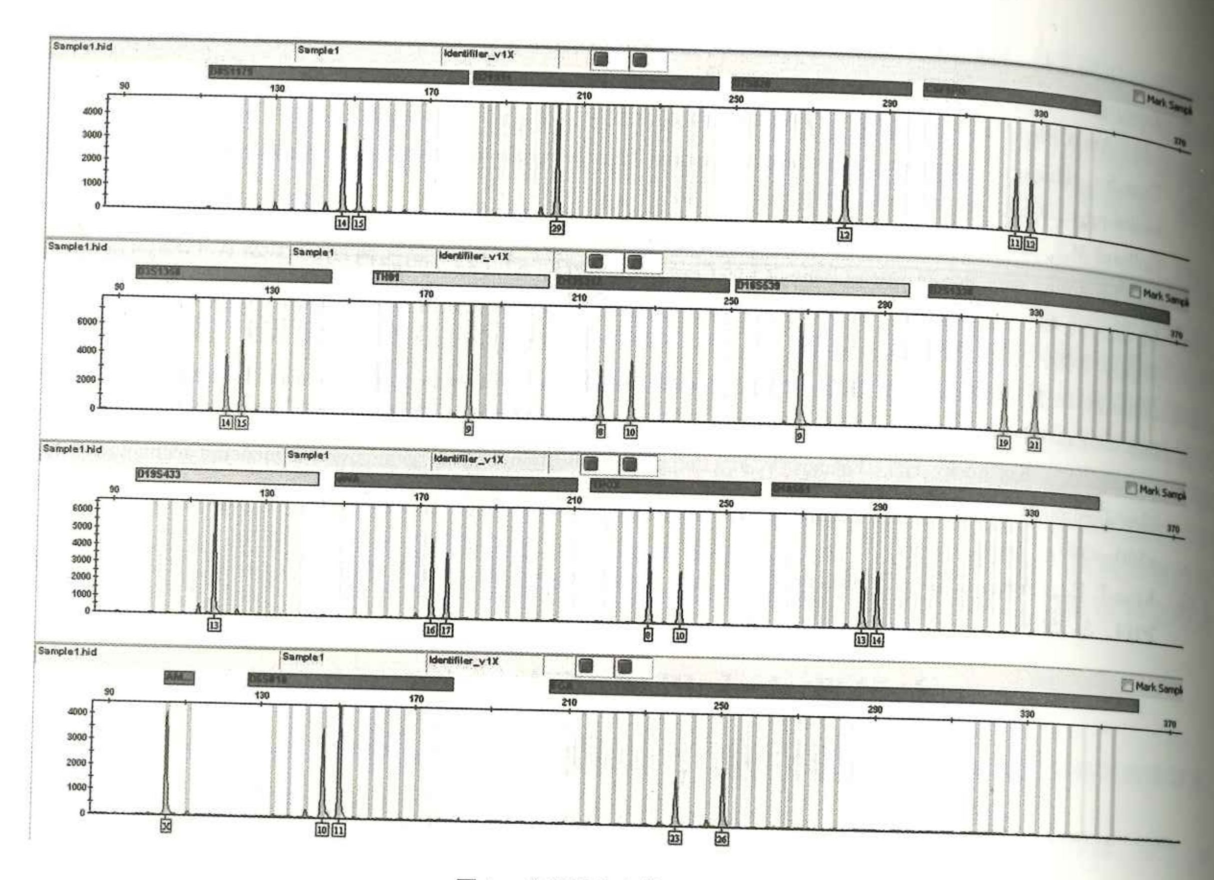


图1 父亲常染色体 STR 分型

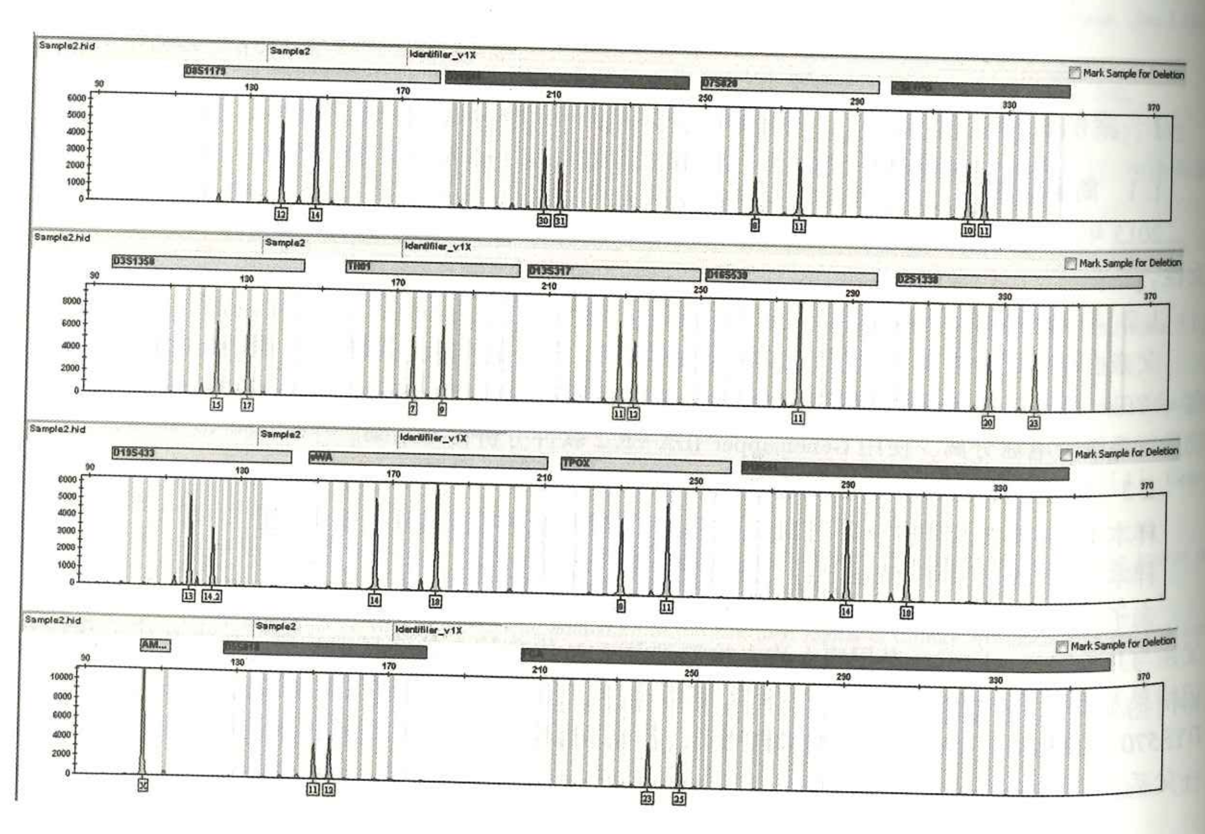


图2 母亲常染色体 STR 分型

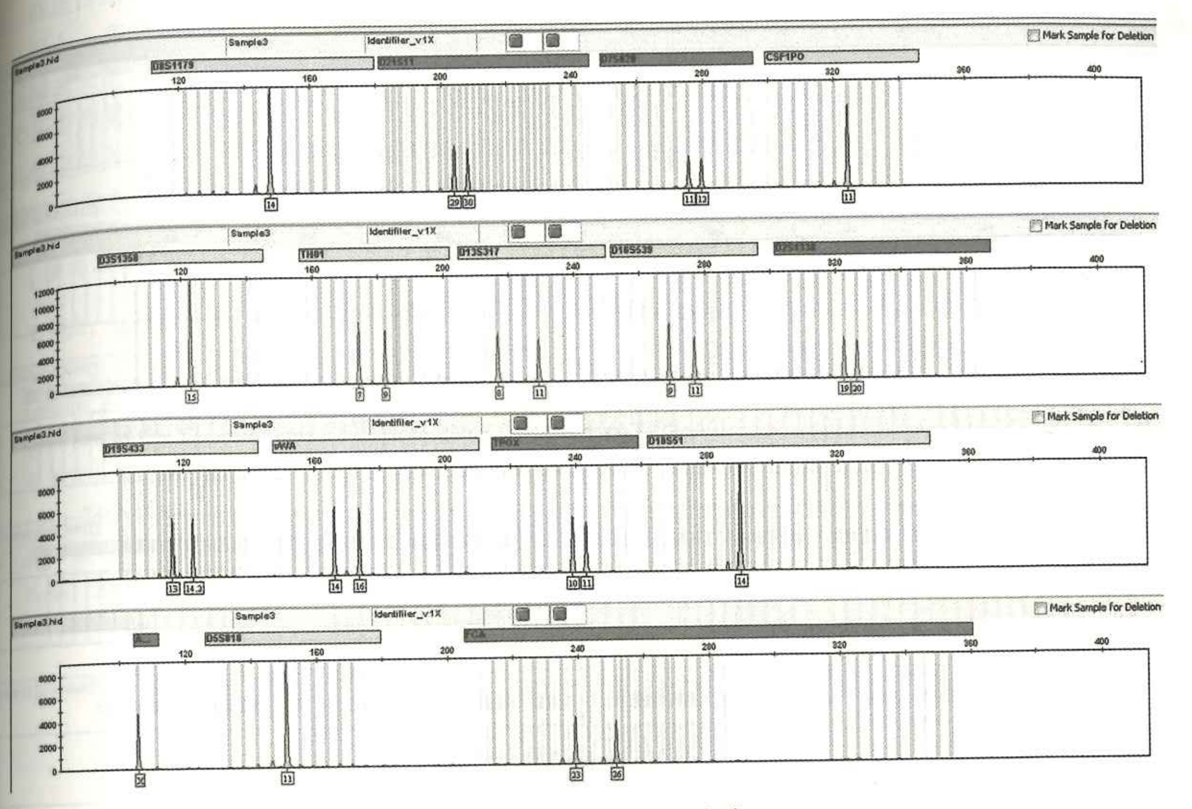


图3 儿子常染色体 STR 分型

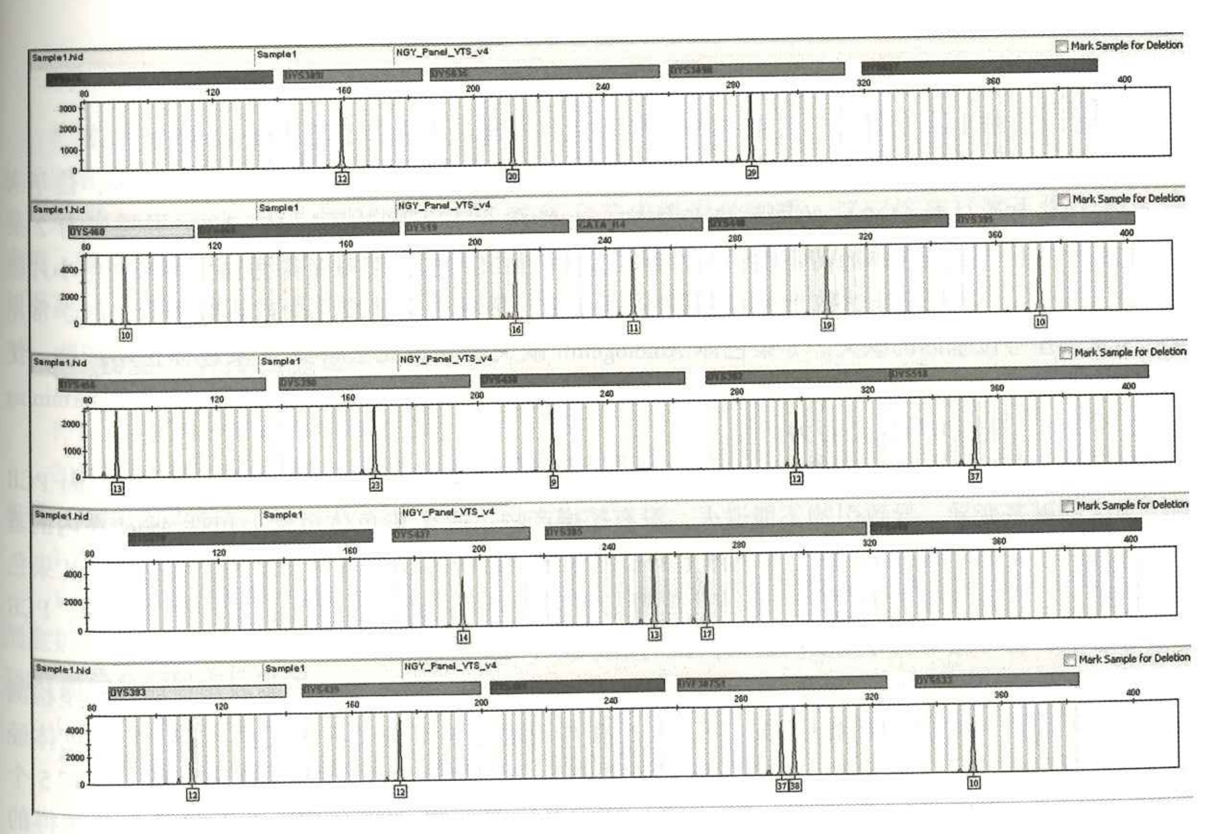


图4 父亲 Y-STR 分型

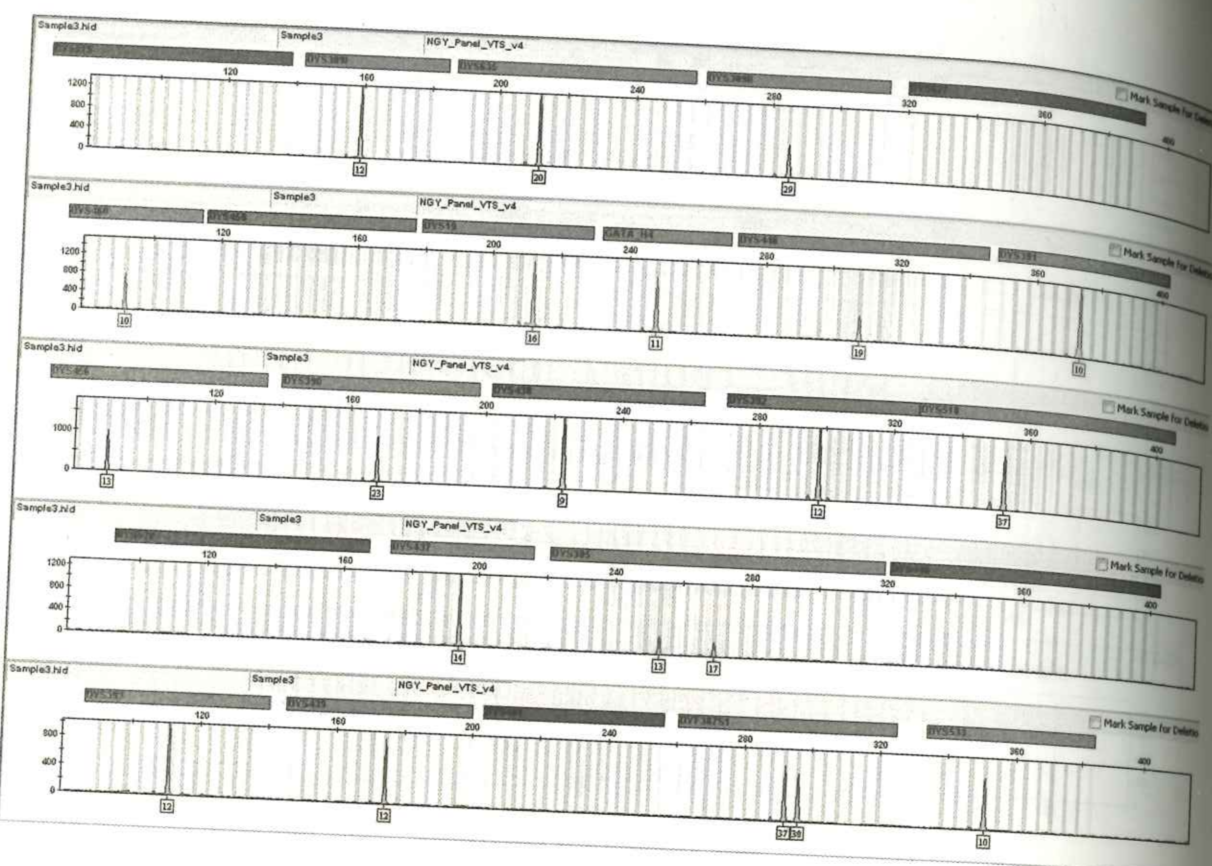


图 5 儿子 Y-STR 分型

2 讨论

人类 Y 染色体与常染色体一样也具有多态性。Amelogenin 是编码牙釉质蛋白的基因，位于 X（p22. 1-22. 3）和 Y（Yp11. 2）的同源染色体中，女性仅含有 1 条片段（106pb），男性则有 2 条（106/112bp）。由于 Y 染色体的特殊性，例如存在大量的回文结构，使得 Y 染色体更容易发生小片段的缺失（微缺失），甚至是长达数十 Mb 碱基片段的缺失，因此也会造成几个或者数十个法医学常用 Y 染色体基因座等位基因的缺失。Y 染色体 Amelogenin 缺失可导致无法得到 Y 染色体扩增产物，使男性样本可误判女性。此种情况可以通过 Y-STR 分型和扩增男性性别决定区（Sex-determining Region Y，SRY）基因来确认是否为男性。

近年来常有男性个体 Amel 基因座仅检测到 X 扩增产物的报道，其原因有多种：如 Y-Amel PCR 引物结合区的碱基变异，导致引物不能退火，没有扩增产物；或 Y 基因序列大片段缺失而导致 Amel 在 Y 染色体上的扩增失败；或 Y 染色体短臂上包括 Amel 在内的基因体缺失；以及在实验过程中出现的引物结合位置的序列差异等。此外，PCR 扩增中受 Tap 酶、PCR 缓冲液等影响，也可能出现等位基因丢失，在判断分型时需要注意。

本案例父母子常染色体 DNA 经 Identifililer Plus 试剂盒扩增，除性别基因座外，其他基因座检测结果完整，可排除 PCR 扩增过程中 Tap 酶、PCR 缓冲液等影响等位基因丢失的可能。Y 染色体经 Yfiler Plus 试剂盒扩增，Y 染色体上的遗传标记结果显示，在检验的 27 个 Y-STR 基因座上，有 5 个基因座（DYS576，DYS627，DYS458，DYS570，DYS481）未获得 STR 分型，由于父子在未获得的 Y-STR 基因型的基因座一致，分析本案为父亲 Y 染色体短臂上包括 Amel 在内的基因序列大片段缺

失，在遗传给后代时导致儿子的染色体在相应片段也出现基因序列缺失的现象。

综上，在实际办案中若出现 Amelogenin 基因座检测结果与其线索或证据不符时，应考虑有 Y 等位基因丢失的可能，可以通过不同的常染色体检验试剂盒进行多次鉴定，并结合 SRY、Y-STR 加以核实是否为男性；另外，除了采用 PCR 技术检测 Y 染色体各个区域的序列标签位点来进行缺失片段的大致定位外，还可以采用全基因组芯片或测序技术，更精细化的分析 Y 染色体结构异常，从而为法医学 Y 染色体基因座分型异常的结果解释提供科学依据。

【参考文献】

[1] 王克杰，杨继全，武红艳，等. 男性样本 Amel 基因座 Y 片段引物结合区变异 1 例［J］. 中国法医学杂志，2014，29（6）：501.

[2] Lattanzi W.，Di Giacorno M. C.，Lenato G. M.，et al.. A large interstitial deletion encompassing the amelogenin on the short arm of the Y chromosome［J］. Hum Genet，2005，116：395-401.

[3] 曾于宝，聂胜洁，唐文如，等. 男性样本 Amelogenin 基因座 Y 片段缺失 1 例［J］. 中国法医学杂志，2007，14（3）：235-237.

[4] John M. B.. Forensic DNA typing：Biology，technlogy and genetics of STR markers［M］. Second edition. Academic Press：2005：688.

男性个体 Amelogenin 基因座 Y 片段缺失两例分析

金育红，赵荣华
（甘肃省甘南藏族自治州公安局，747000）

扩增 Amelogenin 基因座已成为生物样本的性别鉴定的主要方法，被应用于法医亲子鉴定、个体识别和 DNA 数据库建设当中，但由于 Amelogenin 基因座有可能会发生 Y 片段缺失的现象，如果单一运用 Amelogenin 基因座来判断性别，往往会造成错误的判断，这应该在日常工作中引起高度重视。笔者在 2016 年的工作中就发现两例男性个体的 Amelogenin 基因座 Y 片段缺失，现分析如下。

1 对象、方法与结果

1. 1. 1 案例一案情及对象

2016 年 4 月，马某被敏某强奸，办案单位送检马某阴道拭子（标记为 1 号），后补送嫌疑人敏某血样（标记为 2 号）。

1. 1. 2 案例一方法

1 号经 PSA 金标预试验，结果为（+）性，用差异裂解法提取精子 DNA，采用 Identifiler-plus 试剂盒扩增，并经 AB 3500 遗传分析仪进行检测。对 1 号样本采用 Y-filer plus 试剂盒扩增，并经 AB 3500 遗传分析仪进行检测。

1. 1. 3 案例一结果

常染色体检出 Amelogenin 基因座为 X/X 的分型结果（见图 1）；

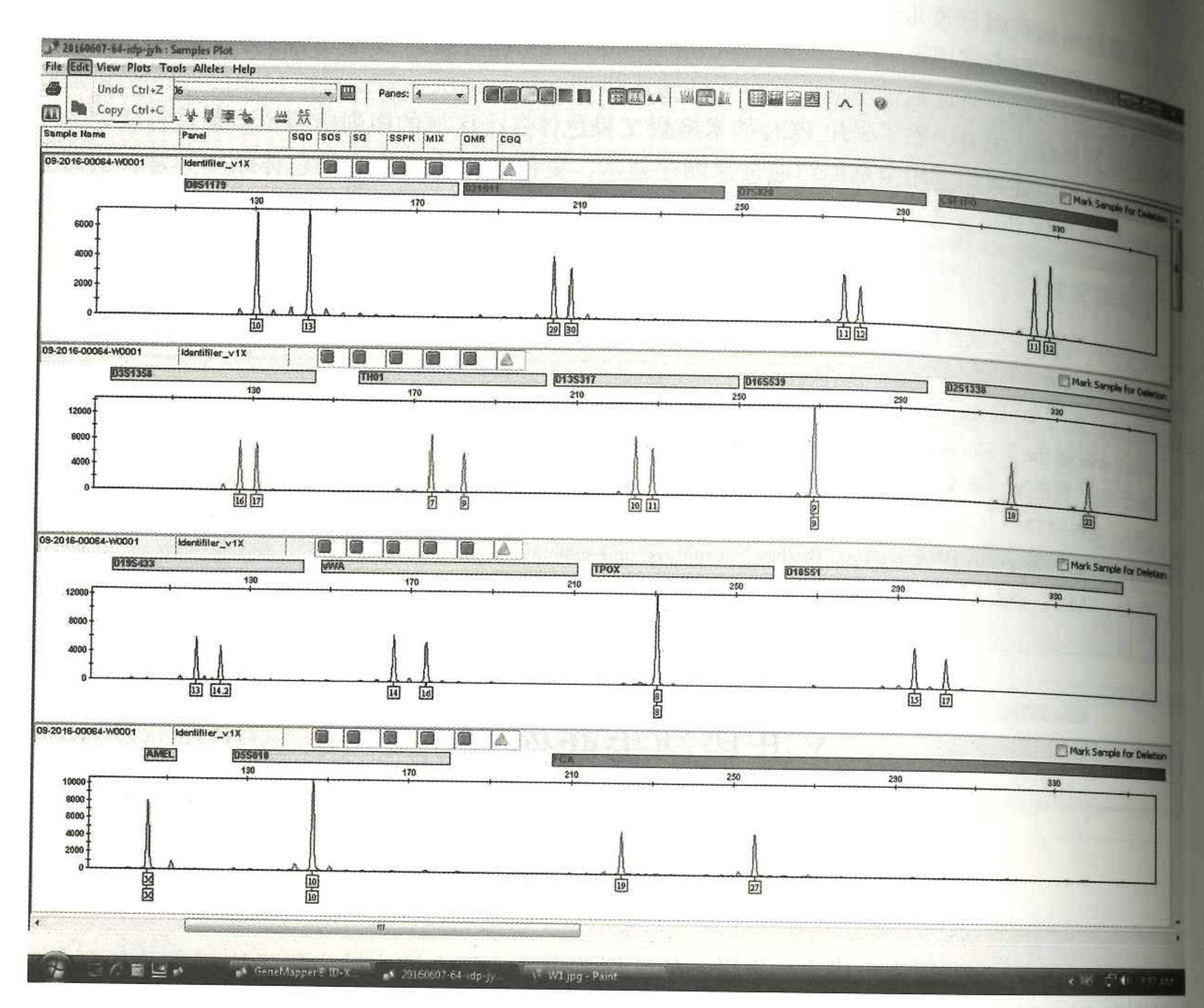


图1 1号样本常染色体 STR 分型

Y-STR 见 DYS576、DYS627、DYS458、DYS44+9、DYS481 等6个基因座缺失；其余基因座均出现峰值，提示1号检材为男性所留。

后办案单位提供嫌疑人敏某的血样（2号），经 Chelex-100 法提取 DNA 并分别采用 Identifiler-plus 试剂盒扩增和 y-filer plus 试剂盒扩增，经 AB3500 自动遗传分析仪进行检测，结果与（1号）相同（见图3）。从而证明受害人阴道内拭子中检出男性精子为敏某所留。

1.1.4 案例二对象

嫌疑人牟某血样（标记为3号）。

1.1.5 案例二方法

3号经 Chelex-100 法提取 DNA，采用 Identifiler-plus 试剂盒扩增，并经 AB 3500 自动遗传分析仪进行检测，采用 Y-filer plus 试剂盒扩增，并经 AB 3500 自动遗传分析仪进行检测。

1.1.6 案例二结果

常染色体检出 Amelogenin 基因座为 X/X 的分型结果（见图4）；

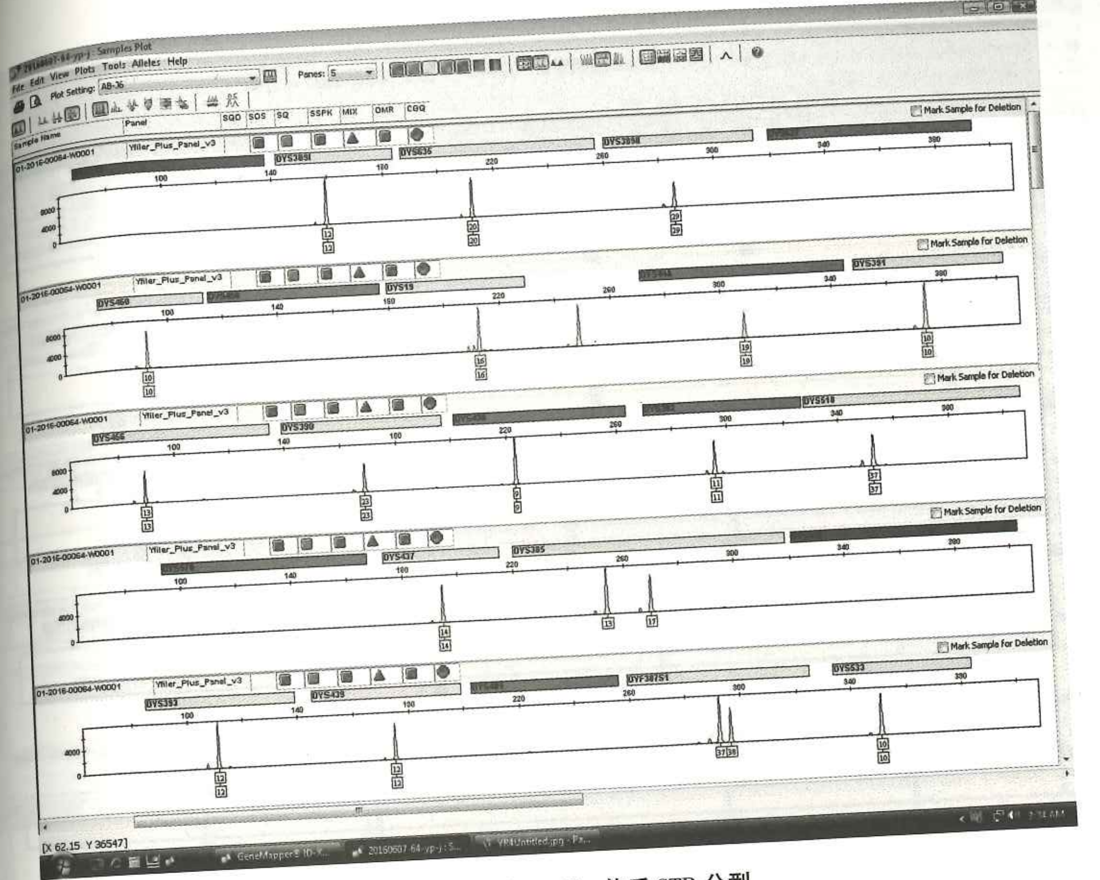


图2 1号样本 Y-filer 体系 STR 分型

